

Departement für Pferde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. Anton Fürst, Dipl. ECVS

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von
PD Dr. med. dent. Stefan Stübinger

Der Einfluss der Hydrophilie auf das Osseointegrationsverhalten von Dentalimplantaten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Ansgar Solecki

Tierarzt
von Schlema, Deutschland

genehmigt auf Antrag von

PD Dr. med. dent. Stefan Stübinger, Referent

Prof. Dr. Stephen J. Ferguson, Korreferent

2016

Departement für Pferde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. Anton Fürst, Dipl. ECVS

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von
PD Dr. med. dent. Stefan Stübinger

Der Einfluss der Hydrophilie auf das Osseointegrationsverhalten von Dentalimplantaten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Ansgar Solecki

Tierarzt
von Schlema, Deutschland

genehmigt auf Antrag von

PD Dr. med. dent. Stefan Stübinger, Referent

Prof. Dr. Stephen J. Ferguson, Korreferent

2016

Meinen Eltern

Zusammenfassung	1
Summary	2
1 Einleitung	3
2 Literaturübersicht	4
2.1 Einheilungsphase.....	4
2.2 Materialien in der Zahnimplantologie	5
2.3 Oberflächenmodifikationen und Implantatdesign	8
2.3.1 Implantatdesign	9
2.3.2 Makro und Mikrodesign	9
2.3.3 Oberflächenveränderungsmethoden	11
2.4 Zielsetzung der Studie	15
3 Material und Methoden	16
3.1 Tierversuch.....	16
3.2 Aufbau der Studie	16
3.3 Schafmanagement	16
3.4 Präoperative Vorsorge.....	17
3.5 Anästhesie	18
3.6 Verwendete Implantate	20
3.7 Operation, Implantation, postoperatives Management	20
3.8 Fluoreszenz	22
3.9 Probenentnahme und - Beurteilung	22
3.10 Histologie	23
3.10.1 Rasterelektronenmikroskopie.....	24
3.10.2 BIC – Bone to Implant Contact.....	25
3.10.3 Histomorphometrie	25
3.11 Biomechanische Auswertung.....	26
3.11.1 Ausdrehmomenttest – Removal Torque Test.....	26
3.11.2 Resonanzfrequenzmessung	27
3.11.3 Statistische Auswertung	27
4 Resultate	28

4.1	Verlauf der Operation und Postoperative Phase	28
4.2	Implantatgewinnung und makroskopische Resultate	28
4.3	Hydrophilie	28
4.4	Histologische Auswertung	29
4.4.1	Qualitative Beurteilung der Dickschnitte	29
4.4.2	Bone to implant contact - BIC	29
4.4.3	Histomorphometrische Auswertung der Dickschnitte	29
4.4.4	Fluoreszenzauswertung	32
4.5	Biomechanische Auswertung	33
4.5.1	Installationsdrehmoment	33
4.5.2	Resonanzfrequenzmessung	33
4.5.3	Removal Torque Test	33
<hr/>		
5	Diskussion	35
5.1	Versuchsmodell und Versuchsablauf	35
5.2	Histologische Auswertung	36
5.3	Biomechanik	39
5.4	UV und Plasma Behandlung - Hydrophilie	41
5.5	Schlussfolgerungen	43
<hr/>		
6	Referenzen	44
<hr/>		
7	Abkürzungsverzeichnis	52
<hr/>		
8	Anhang	53
8.1	Tabellen	53
8.1.1	Hydrophilie	53
8.1.2	Bohrung	56
8.1.3	Histologie	56
8.1.4	Biomechanische Auswertung	59
8.2	Ausdrehkraftkurven	61
8.3	Boxplots	64
8.3.1	Histologie	64
8.3.2	Biomechanik	67

8.4 Abbildungen der histologischen Schnitte, Mikroradiographie und der Fluoreszenzschnitte	70
---	----

Danksagung	
------------------	--

Lebenslauf	
------------------	--

Zusammenfassung

In dieser experimentellen Studie im Schaf wurde der Einfluss von Ultraviolett-Licht (UV) oder Plasmabehandlung auf die Oberflächenhydrophilie und das damit verbundene Osseointegrationsverhalten von Standard-Titan-Zahnimplantaten im Beckenmodell getestet. Es wurden insgesamt n=144 Implantate in die rechte (n=9) und linke (n=9) Beckenschaufel von 36 Schafen gesetzt. Die Tiere wurden in zwei experimentelle Gruppen (UV und Plasma) und eine Kontrollgruppe (keine Behandlung) aufgeteilt. Beobachtungszeiträume waren 2, 4 und 8 Wochen. Es wurden pro Gruppe n=6 Implantate einer biomechanischen (Removal-Torque-Test) und n=6 einer histologischen Untersuchung unterzogen. Die restlichen Positionen waren Teil einer separaten Studie.

Die angestrebte Hydrophilie konnte mit der UV- und Plasmabehandlung erreicht werden, jedoch konnten keine signifikanten Unterschiede in den Ergebnissen der biomechanischen und histologischen Auswertung gegenüber der Kontrollgruppe beobachtet werden. Histomorphometisch konnte tendenziell ein positiver Einfluss auf die Knochenneubildung beobachtet werden, der jedoch statistisch nicht signifikant war.

In diese Studie konnte gezeigt werden, dass eine prä-operative UV-oder Plasma Behandlung zur Verbesserung der hydrophilen Oberflächeneigenschaften von Standard-Titan-Implantaten ohne grössere technische Probleme erfolgreich durchführbar ist. Der erwartete positive Effekt dieser Behandlung auf das Osseointegrationsverhalten konnte nur bedingt bestätigt werden.

Summary

The aim of this study was to determine the influence of surface hydrophilicity, induced by either ultraviolet (UV) or plasma treatment, on the osseointegrative properties of a standard titanium dental implants in a sheep pelvic model.

Altogether n=144 implants were inserted into the right (n=9) and left (n=9) iliac bone of n=36 sheep. Animals were divided into two experimental (UV and plasma) and one control group (no treatment). Selected time points for analysis were 2, 4 or 8 weeks. For each time point and each group n=6 implants were analysed by removal torque test and n=6 implants were evaluated by histology. The remaining implant positions were part for a separate study.

Surface hydrophilicity could be achieved by the UV as well as plasma treatment. However, no statistically significant differences between the groups and time points could be histologically or biomechanically observed. Even though not being statistically significant, advanced histological tendencies in “de novo” bone formation could be disclosed.

The study proved the feasibility to treat titanium dental implants with UV and plasma to enhance the hydrophilic implant surface characteristics. Nevertheless, the positive effect of these treatments regimes was less pronounced to allow drawing any major conclusions.

1 Einleitung

Der Langzeiterfolg von dentalen Implantaten hängt stark von einem stabilen und engen Verbund zwischen dem eigentlichen Implantat und dem umgebenden Kieferknochen ab. Um einen sicheren Halt eines enossalen Implantates für die spätere Kaubelastung gewährleisten zu können, sollte sich bereits in der frühen Einheilphase ein enger Zahnimplantat-Knochenkontakt (engl. bone-to-implant-contact, BIC) aufbauen. Durch entsprechende Oberflächenmodifikationen von Zahnimplantaten versucht man diesen Prozess heutzutage zu beschleunigen und zu optimieren. Eine zukunftsweisende und vielversprechende Technologie stellt in diesem Zusammenhang eine spezielle chemische Veränderung der Implantatoberfläche dar, wodurch bei Blutkontakt die hydrophilen Eigenschaften an der Oberfläche zu einer schnelleren Einheilung des Implantates führen sollen. Oberflächen-Hydrophilie bzw. eine Steigerung der hydrophilen Eigenschaften lässt sich durch verschiedene chemische und physikalische Methoden erzeugen.

Aus diesem Grund war es das Ziel dieser Studie, den Einfluss von Ultraviolett-Licht (UV) und einer Plasmabehandlung auf die Oberflächenhydrophilie und das damit verbundene Osseointegrationsverhalten von kommerziellen Standard-Titan-Zahnimplantaten des Typs Brånmark System MkIII RP (Durchmesser: 4 mm; Länge: 8.5 mm) von der Firma Nobel Biocare mit einer Ti Unite Oberfläche im Beckenmodell zu testen.

2 Literaturübersicht

2.1 Einheilungsphase

Die Implantation eines Dentalimplantates löst eine Reihe von nacheinander ablaufenden Prozessen aus. Der erste biologische Kontakt zwischen Implantat und den knöchernen Wänden des Bohrlochs wird durch ein Blutkoagel gebildet. Dieses schließt die durch die Implantation entstandene Wunde. Proteine wie Fibronektin und Vitronektin lagern sich an der Oberfläche des Implantates an¹. Als nächstes werden durch verschiedene Informationskaskaden Fibroblasten aktiviert und wandern in das bestehende Gebiet ein. Diese vermehren sich, extrazelluläre Matrix wird gebildet und eine Organisation des Blutkoagels findet statt. Es entsteht loses Bindegewebe und die Angiogenese setzt ein. Nach etwa einer Woche wird durch den entstandenen Stimulus die Differenzierung von mesenchymalen Vorläuferzellen aktiviert, die dann zu Präosteoblasten, Osteoblasten und schließlich zu Osteozyten umgebildet werden². Es folgt die Resorption des Blutkoagels und in der Folge wird neue Knochenmatrix gebildet und mineralisiert. Dieser Prozess unterscheidet sich nicht wesentlich von den Abläufen einer ungestörten primären Frakturheilung³. Als Resultat dieser Heilungsprozesse wird eine feste biologische Verbindung mit dem umliegenden Gewebe angestrebt, die auch als Osseointegration bezeichnet wird. Ursprünglich wird Osseointegration als direkter Kontakt zwischen Implantat und lebendem Knochen auf dem Niveau der Lichtmikroskopie beschrieben und ist ein anerkanntes Einteilungsprinzip in der dentalen Implantologie^{4,5}. Nach der Implantation und der initialen Einheilung finden laufend physiologische Reorganisations- und Remodellierungsprozesse statt, um den periimplantären Knochen den wechselnden mechanischen Belastungsansprüchen anzupassen⁵.

Ein Implantat wird als erfolgreich osseointegriert bezeichnet, wenn keine fortschreitende Lockerung zwischen Implantat und Knochen festzustellen ist. Faktoren, die einen entscheidenden Einfluss auf eine erfolgreiche Osseointegration nehmen können, sind die klassischen, von Albrektsson 1981 definierten Kriterien: Implantatmaterial, Makrodesign, Oberflächenbeschaffenheit, Qualität des Knochens, Fähigkeiten des Chirurgen und die Belastung, die auf das eingesetzte Implantat wirken⁴.

2.2 Materialien in der Zahnimplantologie

Werkstoffe, die in der dentalen Implantologie eingesetzt werden, kann man in zwei Kategorien einteilen. Erstens aus chemischer Sicht in Metalle, Keramiken und Polymere und zweitens nach der biologischen Reaktion, die ein Material im Gewebe auslöst. Danach unterscheidet man biotolerante, bioinerte und bioaktive Werkstoffe⁵. Biotolerante Materialien sind diejenigen, die nicht toxisch sind, vom Körper nicht abgestoßen werden und keine allergischen Reaktionen verursachen. Jedoch kann sich eine Bindegewebskapsel als Fremdkörperreaktion um das Implantat bilden, außerdem können kleinere inflammatorische Gewebereaktionen auftreten⁶. Bioinerte Materialien führen im Gegensatz dazu in der Regel zu keiner direkten biologischen Wechselwirkung im Körper^{6,7}. Knochen kann sich an solchen Implantaten anlagern und es entsteht eine Kontaktosteogenese. Es finden keine Abstoßungsreaktionen statt. Im Einzelfall kann es aber auch zu einer Bindegewebsinkapselung kommen^{8,9}. Bioaktivität wird als die Eigenschaft eines Materials angesehen, die eine spezifische Reaktion im Körper hervorruft und daher mit lebenden Gewebe eine Verbindung eingeht⁵. Bioaktive Materialien werden nicht nur vom Organismus toleriert und rufen keine Abstoßungsreaktionen hervor, sondern ermöglichen es dem Knochen auch an der Oberfläche entlangzuwachsen. Darüber hinaus entsteht durch den Austausch von Ionen mit dem umliegenden Gewebe eine starke chemische Verbindung in der Knochen-Implantat-Kontaktzone⁵. So vermindert sich das Risiko, dass es während des Einheilungsprozesses zu einer Ausbildung einer Bindegewebsverbindung zwischen Implantat und Knochen kommt. Das Verhindern einer bindegewebigen Einheilung ist maßgebend für den klinischen Langzeiterfolg eines Zahnimplantates^{10,11}.

Es ist das Ziel, einen stabilen, knöchern-verankerten und funktionellen Ersatz für einen fehlenden Zahn zu schaffen. Dieses kann nur erreicht werden, wenn die Materialien, die dafür verwendet werden, verschiedene Kriterien erfüllen. So wurden für Zahnimplantate in der Vergangenheit viele verschiedene Materialien getestet, wie z. B. Edelstahl, Cobalt-Chrom-Legierungen, Edelmetalle, Reintitan und seine Legierungen, Zirkondioxid und Aluminiumlegierungen, Tantal und Niobium, Keramiken wie Hydroxylapatit und Kalziumphosphate^{5,9,12,13}.

Trikalziumphosphate haben eine dem Knochen sehr ähnliche chemische Zusammensetzung⁹. Sie gelten als bioaktiv und weisen sehr gute osseointegrative Eigenschaften auf^{14,15}. Jedoch sind sie gleichzeitig sehr spröde, halten keine Zugbelastungen aus und sind anfällig für Ermüdungserscheinungen, was bei der sehr

großen Beanspruchung beim Kauen ein Problem und schlussendlich die Ursache für Misserfolge sein kann¹⁵. Andere Keramiken wie das oben genannte Zirkondioxid, das im Moment auf Grund seiner vielversprechenden ästhetischen Eigenschaften einen grossen Zuspruch in der oralen Implantologie erfährt, gelten als biokompatibel, bioaktiv und haben osseokonduktive Eigenschaften¹⁶. Ein weiterer positiver Aspekt von Zirkondioxid ist seine gute Weichgewebeintegration, die bei entsprechender Faserausrichtung der Bindegewebefasern in geeigneten Fällen auch als partielle Periointegration bezeichnet werden kann^{16,17}. Dies führt zu einer stabilieren peri-implantären Weichgewebsumschichtung und kann so auch als mögliche biologische Prävention gegenüber eines späteren Periimplantitisrisikos angesehen werden¹⁷. Implantate aus diesem Material konnten in Studien im Schafsmodell vergleichbare bone-to-implant-contact (BIC)-Werte wie Titanimplantate erzielen^{8,9,18}. Natürlich muss hinzugefügt werden, dass der BIC-Wert von der Oberflächenmorphologie des jeweils verwendeten Implantates abhängt. Es gibt wenige Studien, die bei direkten Vergleichen die genaue und definierte Mikrotopographie mitangeben. Nur eine Studie konnte zeigen, dass eine vergleichbare Rauigkeit auf Zirkondioxid- und Titanimplantaten zu einem vergleichbaren BIC-Wert führte¹⁹. Jedoch besitzt auch Zirkondioxid trotz der sehr guten osseointegrativen Eigenschaften die ähnlichen physikalischen Schwächen wie herkömmliche Keramiken. Manche Autoren sind daher der Ansicht, dass Zirkondioxid- oder Hydroxylapatit- Keramiken wegen ihrer vielversprechenden Eigenschaften in sogenannten „Hybrid-Systemen“ oder in Verbindung mit Titan in Dentalimplantaten zum Einsatz kommen könnten¹⁷.

Hochleistungspolymere wurden als Zahnimplantatmaterialien eingeführt, da angenommen wurde, dass ihre physikalischen Eigenschaften wie z.B. die Elastizität Mikrobewegungen erlauben und dadurch in einem gewissem Maße den Zahnhalteapparat nachahmen könnten^{20,21}. Dieses Verhalten konnte nicht belegt werden. Stattdessen erwiesen sich Polymere durch das Fehlen guter osseointegrativer Eigenschaften, unerwünschter Immunreaktionen und mangelhafter physikalischer Merkmale als nicht geeignetes Material für Implantate und Beschichtungen²².

Im Tissue-engineering verwendet man oft sehr makroporöse Gerüststrukturen, die als Stütze für die dreidimensionale Ausbreitung der Zellen dienen und diese im Wachstum fördern^{8,23,24}. Für die kommerzielle Herstellung von Zahnimplantaten gestaltet sich dieses individuelle Vorgehen als schwierig und sehr kostenintensiv. Aus diesem Grund werden Zahnimplantate im Moment meistens aus einem metallischen Basismaterial,

insbesondere Titan, mit definierter Schrauben- oder Zylinderform angefertigt⁹. Metalle besitzen eine vorteilhafte Kombination von physikalischen Eigenschaften wie Zug und Scherfestigkeit sowie auch Bruchdehnungsbeständigkeit²⁵. Von den ersten Metallen, die als Implantatwerkstoff eingesetzt wurden, waren nicht alle ausreichend biokompatibel. So wurde anfänglich Stahl, Gold oder Cobalt Chrom Legierungen, unter anderem wegen ihrer sehr guten mechanischen Eigenschaften, oft eingesetzt, doch gelten diese Materialien heutzutage als obsolet⁹. Edelstahl gilt als bioinert, was bedeutet, dass er keine Fremdkörperreaktionen und keine Abstossung hervorruft, aber auch nicht so schnell osseointegriert. Die Einheilung läuft über Distanzosteogenese und nicht über Kontaktosteogenese ab². Bei Stahl kann es vorkommen, dass es zu einer Bindegewebeinkapselung kommt, wie das auch bei Molybdän, Aluminium, Silber und Gold der Fall sein kann¹². Aus diesem Grund hat man versucht, Stahl durch Molybdän zu ersetzen und in Cobalt-Chrom-Molybdän-Legierungen zu verarbeiten. Da jedoch auch diese Legierungen keine langfristig-stabilen und erfolgreichen Ergebnisse im Bezug auf eine Osseointegration gezeigt haben, werden sie als aktueller Implantatwerkstoff nicht verwendet.

Für alle medizinischen Anwendungen, bei denen ein Implantat für einen längeren Zeitraum bzw. optimalerweise für immer eingebracht wird, haben sich Titan und seine Legierungen mit ihren biologischen und physikalischen Eigenschaften äusserst bewährt^{26,27}.

Das sehr oft in der Implantologie eingesetzte Reintitan (c.p.Ti – commercially pure Titanium) wird in Klassen (Reinheitsgrade) von 1 bis 4 klassifiziert, wobei der 1. Grad die wenigsten Verunreinigungen mit Kohlenstoff, Sauerstoff, Eisen und anderen Spurenelementen bedeutet (ISO 5832, ASTM F 67). Die meisten Implantate werden aus Titan Grad 4 (c.p.Ti) hergestellt⁹. Mit Zunahme der Verunreinigungen wie z. B. Sauerstoff kommt es zur Erhöhung der Zugfestigkeit, aber auch zur Verminderung der Dehnungsfähigkeit (Elongation)²⁷. Andere Autoren geben an, dass der Grad 4 bei Titan eine höhere Stabilität gegenüber den anderen Reinheitsgraden aufweist²⁸. Für die Eignung dieses Metalls sprechen mehrere Gründe wie seine exzellente Biokompatibilität, seine sehr guten mechanischen Eigenschaften, seine Korrosionsbeständigkeit und die spontane Bildung einer stabilen Oxidschicht (3-10 nm), die sich bei Kontakt mit Sauerstoff bei Zimmertemperatur innerhalb von Millisekunden bildet¹⁰. Titan als Reinmetall hat nur bioinerte Eigenschaften, erst diese Oxidschicht verleiht ihm die sehr guten biologischen Eigenschaften. Die Oxidschicht

verhindert z. B. einen zu großen Elektronenfluss zwischen dem Implantat und dem umliegendem Gewebe, was Korrosionsvorgänge minimiert¹². Es konnte auch gezeigt werden, dass diese isolierende Wirkung ab Oxidschichtstärken von 600 nm stärkere Knochenreaktionen verursacht^{29,30}. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Oxidschicht das Anhaften von Proteinen und die Bildung von Hydroxylapatit begünstigt^{31,32}. Zu möglichen toxischen Eigenschaften von Titan muss gesagt werden, dass während der Implantation und auch danach Titanionen in das umliegende Gewebe des Implantates und in Körperflüssigkeiten abgegeben werden können. Obgleich bis dato noch keine schwerwiegenden klinischen Langzeit-Komplikationen nachgewiesen werden konnten, werden mögliche negativen Nebenwirkungen in der Literatur kritisch diskutiert³³. Dennoch konnte bis dato in keinem Versuch nachgewiesen werden, dass es unter Entzündungsbedingungen, wie z. B. bei Periimplantitis zu einer Korrosion von Titan kommt³⁴⁻³⁶. Das Elastizitätsmodul von Titan und seinen Legierungen liegt im Bereich von kortikalem Knochen (kortikaler Knochen – 20 GPa, Titan und seine Legierungen - zwischen 80 und 120 GPa, das ist die Hälfte des Wertes von Stahl)^{12,37-39}. Dadurch können die beim Kauen entstehenden Kräfte auf den umliegenden Knochen weitergeleitet werden (Isoelastische Implantate). Diese Eigenschaft ist wichtig für den Langzeiterfolg des Implantates und unterstützt die Bildung von neuem Knochen im peri-implantären Raum. Durch die biomechanische Stimulation der weitergeleiteten Kaukräfte auf den umliegenden Knochen kann einem Knochenschwund partiell entgegengewirkt werden und damit das Risiko einer aseptischen Lockerung minimiert werden¹².

2.3 Oberflächenmodifikationen und Implantatdesign

Die Oberflächenmorphologie von Implantaten wird topographisch in Makrodesign, Mikrodesign und Nanodesign unterteilt. Beim Makrodesign handelt es sich um Veränderungen im Größenbereich von Millimetern, beim Mikrodesign spricht man von Veränderungen von 1 – 10 Mikrometern und das Nanodesign beschreibt Veränderungen von 1 – 100 nm⁵.

Neben der Veränderung der Mikrostruktur spielt die biologisch-chemische Funktionalisierung von Oberflächen eine entscheidende Rolle in der aktuellen Optimierung und Weiterentwicklung von zahnärztlichen Implantaten. Dies geschieht vornehmlich durch das Auftragen von bestimmten bioaktiven Molekülen oder Beschichtungen wie z. B. Calciumphosphat auf die Oberfläche. Andere Möglichkeiten

basieren auf verschiedenen physikalisch-chemischen Verfahren zur Verbesserung der hydrophilen Eigenschaften eines Implantates⁴⁰.

Diese Veränderungen haben das Ziel, die Zelladhäsion, -proliferation und –differenzierung zu fördern^{40,41}. Es wurden auch Versuche unternommen, Oberflächenstrukturen zu nutzen, um dort Wirkstoffe zu deponieren, die nach der Implantation kontrolliert freigesetzt werden können^{42,43}. Alle diese Bestrebungen sollen ein schnelleres und komplikationsfreies Einheilungsverhalten ermöglichen und den dauerhaften Erfolg eines Implantates garantieren.

2.3.1 Implantatdesign

In der Vergangenheit wurden verschiedene Implantatformen und - designs angewandt und getestet. Durchgesetzt haben sich zylindrische oder konische Schraubenimplantate, die oft mit einem Gewinde versehen sind. Zylindrische und konische Implantate ohne Gewinde, die in den meisten Fällen eine Press-fit-Verankerung zwischen Knochen und Implantat aufweisen, konnten sich in der dentalen Implantologie nicht durchsetzen, da auf längere Zeit der Knochenschwund nicht verhindert, bzw. das Knochenniveau nicht gehalten werden konnte⁹. Die mit einem Gewinde versehenen Implantate unterscheiden sich durch Ihre Konizität oder die Form des Gewindes (den Kerndurchmesser, Außendurchmesser, Steigungswinkel, Flankenwinkel, das Gewindeprofil, ob es sich um ein mehrgängiges Gewinde handelt oder ob es selbstschneidend ist)⁹. Konische Implantate haben eine größere Kontaktfläche mit dem Knochen im Vergleich zu einer zylindrischen Form. Dieses Makrodesign hat sich wegen seiner sehr guten mechanischen Eigenschaften und der relativ atraumatischen Implantationsmethode bewährt⁹.

2.3.2 Makro und Mikrodesign

Durch eine Oberflächenmodifikation eines Dentalimplantates versucht man die physikalischen und chemischen Eigenschaften so zu verändern, dass die mechanische und biologische Verankerung im Knochen bzw. der osseointegrative Prozess verbessert werden. Der Oberfläche sollen vorteilhafte biologische Eigenschaften verliehen werden, um z.B. die Anlagerung von Proteinen und Zellen zu verbessern und dadurch die Proliferation und Differenzierung von Osteoblasten zu optimieren⁴⁴. Diese biologischen Reaktionen lassen sich vorallem durch das individuelle Mikro- und Nanodesign der Oberfläche beeinflussen. Insbesondere die Nanostrukturierung ist im

Moment ein Schwerpunkt in der experimentellen Forschung und es werden unzählige Verfahren entwickelt um biologisch-physikalische Verbesserungen wie z.B. die Oberflächenhydrophilie zu erreichen⁴⁵⁻⁴⁸. Die Veränderungen im Bereich des Mikrodesigns zielen darauf hin, die Rauigkeit einer Oberfläche zu modifizieren.

Es gibt etwa 50 Parameter, mit denen man eine raue Oberfläche beschreiben kann⁴⁹. Der bekannteste und am häufigsten genannte S_a Rauigkeitswert wird nach ISO 25178 berechnet. Oberflächen mit einer Rauigkeit S_a von unter $1\text{ }\mu\text{m}$ gelten als glatt und über $1\text{ }\mu\text{m}$ als rau. Eine andere Klassifizierung unterteilt in minimal raue ($S_a\text{ }0.5\text{-}1\text{ }\mu\text{m}$), moderat raue ($S_a\text{ }1\text{-}2\text{ }\mu\text{m}$) und raue ($S_a\text{ }2\text{-}3\text{ }\mu\text{m}$) Oberflächen statt⁵⁰. Glatte Oberflächen ($S_a\leq 1\text{ }\mu\text{m}$) werden in der Medizin vor allem bei Implantaten wie Stents, die Kontakt mit Blut haben, eingesetzt. Dort ist es wichtig, dass die Adhäsion von Blutplättchen oder Proteinen nicht begünstigt wird. Ein weiterer Anwendungsbereich für glatte Oberflächen sind Osteosyntheseschrauben bei denen kein langfristiger Verbund zwischen Implantat und Knochen gewünscht wird. Dort ist es wichtig, dass die Schrauben nicht vollständig osseointegrieren, sondern nach einem gewissen Zeitraum problemlos wieder entfernt werden können⁵¹. Mikrorauigkeiten auf der Implantatoberfläche vergrößern die effektive Kontaktoberfläche zwischen Implantat und dem umliegenden Gewebe. Die chemischen Anziehungskräfte werden größer und der Verbund zwischen Implantat und Knochen wird gefördert. Die zusätzliche Vergrößerung der Oberfläche bewirkt eine weitere biomechanische Stabilität⁵⁰. Man hat auch beobachtet, dass beim Verwenden eines Implantates mit einer rauen Oberfläche ein größerer Wert des Knochen-Implantat-Kontaktes erzielt werden konnte, was prinzipiell als Anzeichen einer verbesserten Osseointegration angesehen werden kann⁵⁰. Bezüglich des Einflusses der Rauigkeitswerten von Implantatoberflächen auf den Implantat-Knochen-Verbund wurden in der dentalen Implantologie zahlreiche Studien durchgeführt^{4,21,24,27,32,44}. Hansonn und Norton haben 2007 mathematisch berechnet, dass die optimale Oberflächenrauigkeit durch Vertiefungen von $1.5\text{ }\mu\text{m}$ mit $3\text{ bis }5\text{ }\mu\text{m}$ Durchmesser gegeben ist⁵². Diese theoretischen Überlegungen konnten experimentell bestätigt werden^{53,54}. Andere Autoren nennen einen Wert von etwa $0.5\text{ bis }2\text{ }\mu\text{m}$ oder $3\text{ }\mu\text{m}$, der sich günstig auf die Osseointegration auswirkt^{50,55}. Allgemein wird angenommen, dass raue Oberflächen die Osseointegration bzw. die initiale Anlagerung von Fibrin und anderen Proteinen am Implantat begünstigen⁵. Fibrin stabilisiert das entstandene Blutkoagel und stellt ein Verbindungsglied zwischen Implantat und den knochenbildenden Zellen dar⁵⁶. Experimentelle Versuche zur Adsorption von Bovinem-

Plasma-Albumin an Titanoxid zeigten, dass die Anlagerung umso größer ist, je rauer die Oberfläche ist⁵⁷. So kann die Gefahr der Bildung einer fibrösen Kapsel minimiert und die Ausgangssituation für eine gute Osseointegration gewährleistet werden.

2.3.3 Oberflächenveränderungsmethoden

Die Verbindung eines Implantates mit dem umliegenden Gewebe beginnt mit dem Anlagern von Thrombozyten, die verschiedene Wachstumsfaktoren und Cytokine ausschütten (z.B. PDGF, TGF- β , ECGF, NAP)⁵⁶. Strukturproteine wie Fibrin lagern sich an. Es folgt die Migration und Rekrutierung osteogener Zellen, die dann für die Osseointegration sorgen. Diesen Prozess nennt man Osteokonduktion und er ermöglicht das Entstehen von neuen Knochen auf der Implantatoberfläche (Kontaktosteogenese)². Die Fähigkeit der Anlagerung von Proteinen auf einer Oberfläche hängt sehr stark von ihrer Beschaffenheit und den chemischen Eigenschaften ab. Die ersten Dentalimplantate mit einer maschinerten Oberfläche wiesen nur geringe Eigenschaften auf, um Proteine zu binden⁵⁸. Dadurch war der osseointegrative Prozess und die nachfolgende biomechanische Stabilität dieser Implantate beeinträchtigt^{58,59}. Erst durch eine mikrostrukturelle Veränderung der Oberfläche konnte eine bestimmte Rauigkeit erzielt werden, die letztendlich das Einheilverhalten der Implantate positiv beeinflusste. Zu den am häufigsten eingesetzten Methoden einer Oberflächenmodifikation zählen das Plasmasprayverfahren, das Sandstrahlen mit Partikeln verschiedener Größe, das Säureätzen und Kombinationen dieser Verfahren⁶⁰. Eine andere Möglichkeit die Rauigkeit zu beeinflussen ist die Funkenanodisierung^{30,61}.

Das Verfahren des Sandstrahlens und Kugelstrahlens beruht auf dem Schleudern von Strahlmittelkörnern mit hoher Geschwindigkeit auf die zu behandelnde Oberfläche des Strahlgutes. Beim Sandstrahlen werden unregelmäßige und beim Kugelstrahlverfahren ovale Körner verwendet. Es werden Veränderungen in der Oberfläche erzeugt, deren Beschaffenheit von den Bedingungen des Prozesses wie Geschwindigkeit, Energie und der Art der Körner abhängt⁶². Diese Verfahren werden seit langem zum Reinigen und Aufrauen von Oberflächen benutzt. In der Implantologie wird Sandstrahlen oft als einer von mehreren Schritten der Fertigung eines Implantates eingesetzt. Die Implantate werden damit gereinigt und man kann eine „Anfangsrauigkeit“ herstellen, die dann z.B. durch Säureätzen nachbearbeitet wird. Das Strahlmedium sollte biokompatibel sein und die Osseointegration nicht beeinflussen⁶⁰. So wird vorwiegend Aluminiumoxid (Al_2O_3), Hydroxyapatit [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] und Titandioxid (TiO_2) eingesetzt.

Durch die Partikelgröße kann man eine bestimmte Rauigkeit erreichen ($25 - 900 \mu\text{m}$)⁶². Durch das Sandstrahlen sollen ein Aufräumen der Oberfläche, eine Reinigung des Werkstückes nach der maschinellen Bearbeitung und das Aufbauen einer Druckeigenspannung durch die entstehenden Verformungen bewirkt werden⁶³. Bei der Bestrahlung von Zahnimplantaten wird meistens Aluminium- und Siliziumoxid verwendet. Man benutzt diese harten Keramiken, da Titan auf Grund seiner physikalischen Eigenschaften sehr schwer zu bearbeiten ist⁶⁴. Der Nachteil des Sandstrahlprozesses ist, dass man nach der Behandlung Spuren der verwendeten Materialien auf dem Implantat finden kann. Diese Verunreinigungen bleiben trotz moderner Reinigungsmethoden in vielen Fällen auf der Oberfläche^{65,66}. Es wird angenommen, dass aus den Rückständen Ionen austreten können und dadurch eine zytotoxische Reaktion hervorrufen können⁶⁶. Über die Wirkung und die möglichen Folgen einer solchen Reaktion wird in der Literatur noch diskutiert^{66,67}. Es konnte gezeigt werden, dass das für das Sandstrahlen benutzte Material neben Aluminium und Titan auch Nickel, Molybdän, Silizium, Phosphor, Kalium, Chlor und Vanadium enthalten hat, was eine mögliche toxische Reaktion auslösen kann⁶⁸. Jedoch konnte zum Beispiel für Aluminiumdioxid kein negativer Effekt bestätigt werden^{58,69,70}. Alternativ hat man Versuche unternommen, Titanoxid als Strahlmedium zu benutzen^{71,72}. Man ging davon aus, dass dieses unbedenklicher ist da es schon auf der Oberfläche der Implantate vorkommt. Eine Weiterentwicklung dieser Methode ist das von Citeau et. al. entwickelte Sandstrahlen mit biphasischem Kalziumphosphat (BCP)⁶⁵. Damit liess sich eine Rauigkeit von $1.57 \mu\text{m}$ erreichen. Dieser Wert, wie oben beschrieben, gilt als optimal für die Osseointegration. In dieser Studie konnte daher keine Beeinträchtigung der anhaftenden Osteoblasten beobachtet werden. Es lassen sich somit geeignete Oberflächen für die Implantologie herstellen, ohne dass relevante Verunreinigungen festgestellt werden können. Die auf der Oberfläche in kleinen Mengen verbleibenden Spuren von Phosphor und Kalzium wirken sich eher positiv auf die Osseointegration aus⁷³.

Beim Plasmaspray-Verfahren für Dentalimplantate wird vorzugsweise Titanstaub oder Hydroxyapatit durch Erhitzen mit einer Flamme oder einem elektrischen Bogen zum Schmelzen gebracht und dann auf das zu beschichtende Material per Düse gesprüht⁷⁴. Man kann die Stärke der Beschichtung mit Hilfe von Veränderungen verschiedener Parameter wie Temperatur, Größe und Geschwindigkeit der Partikel, Zeitraum der

Besprühung und durch Verwendung entsprechender Rohstoffe beim Prozessablauf einstellen⁷⁴.

Die Funken-Anodisierung ist eine weitere mögliche Methode der Oberflächenmodifikation. Dies ist ein Verfahren zur gezielten Passivierung metalischer Oberflächen, in diesem Fall eines Zahnimplantates aus Titan. Das Verfahren findet in einer galvanischen Zelle statt, wo das Werkstück als Anode dient und in einer Elektrolytlösung getaucht wird⁷⁵. Mit Hilfe von elektrischer Spannung bildet sich eine Oxidschicht. Diese Oxidschicht unterscheidet sich in Ihrer beschaffenheit je nach Verwendtem Elektrolyt (z.B. Schwefelsäure oder Phosphorsäure) und der angelegten elektrischen Spannung⁷⁶. So entsteht eine raue Oberfläche mit einer dickeren Titanoxidschicht und regulären Vertiefungen, die man als Poren bezeichnet⁵⁰. Anodisierte Implantate weisen sehr gute biomechanische Stabilitätswerte auf, was auf gute mechanische und osseointegrative Eigenschaften schließen lässt^{76,77}. Durch die dicke Oxidschicht werden Korrosionsvorgänge minimiert⁷⁵. Für die kommerziell erhältliche Implantate der Firma Nobel Biocare (Kloten, Schweiz), die auch in der vorliegenden Studie zum Einsatz kamen wird im Produktionsprozess Phosphorsäure als Elektrolytlösung verwendet (Ti-Unite® Oberfläche).

Das Säureätzverfahren ist neben der oben genannten Anodisierung und dem Sandstrahlen eines der am häufigsten eingesetzten Verfahren der Optimierung einer Implantatoberfläche⁷⁸. Meistens wird Phosphorsäure (H_3PO_4), Salpetersäure (HNO_3), Salzsäure (HCl), und Flußsäure (HF) sowie deren Kombinationen eingesetzt. Dieses Verfahren wird eingesetzt, da man eine mikrorauhe Oberfläche erreichen kann mit Rauigkeiten von $0.5\ \mu m$ bis $2\ \mu m$. So wird die Aggregation von Fibrin, anderen bindenden Proteinen und Blut gefördert und so wird das Anhaften der Osteoblasten auf diesem Gerüst begünstigt^{60,79}. Es konnte gezeigt werden, dass mit dieser Methode höhere BIC Werte erzielt werden, was auf die bessere Osseointegration solcher Implantate schließen lässt^{80,79,81,82}.

Nach dem Säureätzen können Rückstände, die auf die eingesetzten Chemikalien zurückzuführen sind, gefunden werden, die aber bis jetzt nicht negativ im Hinblick auf die Osseointegration aufgefallen sind⁸⁰.

Das Thema Nanodesign und Oberflächenenergie ist heutzutage in der Forschung sehr aktuell geworden. Neben dem Trend der letzten Jahre neue raue Oberflächen und ihre Eigenschaften zu erforschen, zeichnet sich eine neue Richtung zur Analyse und Optimierung der Oberflächenenergie ab^{2,48,77,83-87}. Es konnte gezeigt werden, dass

moderat-raue Oberflächen die Osseointegration verbessern ($1\text{-}3\mu\text{m}$)⁸⁸. Diese Werte haben sich in der Forschung und am Markt bewährt, weshalb die meisten im Menschen eingesetzten Implantate eine Mikrorauigkeit in diesem Bereich aufweisen⁵. Neben einer Veränderung der Mikrotopographie bedingt der Fertigungsprozess dieser Oberflächen aber auch immer eine bestimmte Veränderung der Nanostrukturierung. Als unerkannte Nebenwirkung des Prozessablaufs, wurde diesem Aspekt anfänglich nicht viel Beachtung geschenkt. Der limitierende Faktor war größtenteils das Fehlen geeigneter Analyseverfahren und das genaue Verständnis der dadurch hervorgerufenen biologischen Abläufe. Durch moderne Untersuchungsmethoden wie z.B. Rasterkraftmikroskopie lässt sich der Osseointegrationsprozess auf atomarer Ebene beurteilen und die chemischen und biologischen Eigenschaften der Oberfläche können so sehr detailliert charakterisiert werden⁸⁹. Zudem lassen sich durch die Anwendung von nanotechnologischen Prozessen auch gewisse Oberflächeneigenschaften, die den allgemeinen Einheilprozess fördern, gezielt erzeugen. So konnte durch die Anwendung der Nanotechnologie die Oberflächenenergie einer Oberfläche so beeinflusst werden, dass ihre hydrophilen Eigenschaften signifikant verbessert werden konnten^{44,73}. Durch diese optimierten Oberflächeneigenschaften soll primär das klinische Einheilverhalten verbessert werden um z.B. bei älteren Patienten oder Patienten mit schlechter Knochenqualität die Erfolgsrate zu erhöhen und die Komplikationsraten zu reduzieren. Die Oberflächenenergie hängt eng mit der Hydrophilie zusammen. Um eine Steigerung der Oberflächenenergie und damit eine hydrophile Oberfläche zu erreichen, gibt es verschiedene Verfahren^{84,90-93}. Gegenwärtig gibt es zwei Hauptverfahren, die in der Forschung untersucht werden um die Oberflächenenergie zu verändern. Eine Möglichkeit ist die Behandlung mit Ultraviolett (UV)-Strahlen⁹⁰. Mit Hilfe der UV-Bestrahlung „aktiviert“ man die Oberfläche, so dass sich der sog. Kontaktwinkel zwischen Oberfläche und einem aufgetragenen Flüssigkeitstropfen reduziert. Je kleiner dieser ist, desto hydrophiler ist eine Oberfläche. Bei der schon in den Neunzigerjahren erwähnten Methode der UV-Behandlung werden die Implantate der UV-Strahlung in verschiedenen Intensitäten und verschiedenen Zeiten (12-48h) ausgesetzt^{90,94-95}. Die genauen Behandlungsprotokolle sind noch Gegenstand der aktuellen Forschung. Die Bestrahlung verändert die oberste Halbleiter-Titandioxid-Schicht und bewirkt eine fotokatalytische Reaktion, die eine hohe Dichte an freien Hydroxygruppen (OH) zur Folge hat. Diese verschaffen der Oberfläche sehr starke hydrophile Eigenschaften^{83,84,96}.

Ein sehr wichtiger positiver Effekt der bei mit UV behandelten Oberflächen auftritt, ist deren größere Fähigkeit, Proteine zu binden⁹⁷. Dies kann mit der erhöhten katalytischen Aktivität zusammenhängen, die nach der UV-Behandlung auf TiO₂-Oberflächen auftritt⁹⁸. Einige Studien konnten eine gesteigerte Knochenneubildung mit verbesserter Knochenmikrostruktur um UV-behandelte Oberflächen belegen^{99,100}. In diesem Zusammenhang konnte ein günstigeres Verhältnis von Kalzium zu Phosphor im neuen Gewebe, eine höhere Zellaktivität⁸⁰ der Osteoblasten und eine höhere Kalziumdeposition in der periimplantären Region beobachten werden^{75,76,86}. Außer der hervorgerufenen Hydrophilie hat UV-Strahlung auch andere positive Eigenschaften. Die behandelten Oberflächen werden steril, Verunreinigungen mit Kohlenstoff werden minimiert und die Knochenaktivität rund um das Implantat wird begünstigt^{94,101}.

Die zweite physikalische Methode, die Oberflächenenergie zu steigern, stellt die Plasmabehandlung dar. Kaltes Plasma (nicht thermisches Plasma, NTP) wird durch das Ausleiten von Gas (z.B. Argon) aus einem so genannten „Plasma Jet“, an dem eine sehr hohe elektrische Spannung (5–15 kV, 10–100 kHz) angelegt ist, erzeugt. So werden die Gasmoleküle in einem sehr hohen Maße ionisiert. Milde Plasmabehandlung (niedrige Energien und Flussraten) verändert die Oberflächenmorphologie nicht und hinterlässt eine in ihren Eigenschaften reproduzierbare Oberfläche¹⁰². Die Behandlung mit Plasma konnte schon in mehreren Einsatzbereichen erfolgreich verwendet werden, z. B., um Bakterien und Pilze abzutöten, die Abheilung infizierter Wunden zu fördern oder bei der Sterilisation von Oberflächen^{37,103-106,102,107}. In der Implantologie hat man sich die Fähigkeit der Plasmabehandlung, die Oberflächenenergie zu erhöhen, zu Nutze gemacht, um die Hydrophilie zu steigern und sich dadurch die oben genannten Vorteile zu erhoffen. Die Begünstigung der Anlagerung von Calciumphosphat konnte bewiesen werden¹⁰⁸.

2.4 Zielsetzung der Studie

In dieser Studie war es das Ziel, den Einfluss von UV Bestrahlung und Plasma-Behandlung auf die hydrophilen Eigenschaften von kommerziellen Standard-Titan-Zahnimplantaten im Schafmodell zu untersuchen. Die Hypothese war dabei die Annahme, dass beide Verfahren die hydrophilen Oberflächeneigenschaften steigern und damit auch die osseointegrativen Eigenschaften der Implantate.

3 Material und Methoden

3.1 Tierversuch

Dieser Versuch wurde von dem kantonalen Veterinäramt Zürich mit der Bewilligungsnummer 46/2011 nach Art. 13a des Eidg. Tierschutzgesetzes, TSchG; und Art. 60 bis 62 Eidg. Tierschutzverordnung, TSchV vom 19.08.2005 genehmigt.

3.2 Aufbau der Studie

Die Studie war Teil eines grösser angelegten Forschungsprojektes für das insgesamt n=36 Schafe im Alter von 1 bis 3 Jahren ausgewählt wurden. Es handelte sich um Schafe der Rassen Weises Alpenschaf und Braunköpfiges Fleischschaf. Das Gewicht der Tiere variierte von 69 kg bis 97 kg. Die 36 Schafe wurden 3 Zeitpunkten zu je n=12 Tieren zugeteilt. Tiere, die dem Zeitpunkt 1 zugeteilt wurden, wurden nach 2 Wochen geschlachtet, Tiere des Zeitpunkts 2 nach 4 Wochen und Tiere des Zeitpunkts 3 nach 8 Wochen. Pro Schaf wurden je n=9 Implantate in die rechte Beckenschaufel und n=9 Implantate in die linke Beckenschaufel gesetzt, so dass insgesamt pro Schaf n=18 Implantate inseriert werden konnten.

In der vorliegenden Studie wurden drei verschiedene Gruppen miteinander verglichen. Gruppe 1 bestand aus Implantaten mit einer UV-Behandlung, Gruppe 2 waren Implantate, die eine Plasmabestrahlung erhalten hatten und Gruppe 3 bestand aus unbehandelten Kontrollimplantaten. Pro Gruppe wurden n=6 Implantate einem biomechanischen Removal-Torque-Test und n=6 einer histologischen Auswertung unterzogen. Das ergab pro Zeitpunkt n=36 Implantate und insgesamt n=108 Implantate. Die restlichen Implantatpositionen in den Beckenschaufeln wurden in der vorliegenden Studie nicht berücksichtigt, da die unterschiedliche Oberflächenmodifikationen dieser Implantate keinen direkten Vergleich mit den drei Gruppen erlaubten.

3.3 Schafmanagement

Die für die Studie benötigten Tiere wurden von Züchtern in der Schweiz angekauft. Bei der Lieferung wurden die Tiere einer Ankaufsuntersuchung unterzogen. Diese beinhaltete eine ausführliche klinische Untersuchung, eine Trächtigkeitsuntersuchung per Ultraschall (um eine Schwangerschaft auszuschließen) und eine Blutentnahme. Trächtige Tiere wurden von der Studie ausgeschlossen. Weiterhin bekamen die Schafe bei einem negativem Ultraschallbefund eine Injektion von Prostaglandin F2 α s.c.

(Dinolytic*; 2ml, Pfizer AG, Zürich, Schweiz), um Frühträchtigkeit auszuschließen. Das aus der Vena jugularis mit einem Vakutainersystem (Bellivier, Industrial Estate, Plymouth, Großbritannien) gewonnene Blut wurde an das Virologische Institut des Tierspitals der Universität in Bern geschickt, wo eine serologische Untersuchung auf die Maedi Visna Krankheit erfolgte. In die Studie wurden nur Tiere aufgenommen, bei denen der serologische Test negativ war.

Die vorgenommene allgemeine Untersuchung stellte sicher, dass nur gesunde Tiere, bei denen keine Krankheitssymptome zu sehen waren und deren Allgemeinbefinden ungestört war, aufgenommen wurden. Nach der Untersuchung erhielten die Tiere neben den schon vorhandenen Ohrmarken mit der TVD-Nummer noch eine Ohrmarke (Allflex[®], USA, P.O. Box 612266, TX 75261) mit jeweils zwei Buchstaben in Blockschrift. Angekaufte Tiere des Bestandes wurden 2 x jährlich im Frühjahr und im Herbst geschoren. Darüber hinaus wurde alle sechs Wochen routinemäßig der Gesundheitszustand kontrolliert, eine Klauenpflege vorgenommen und anstehende Impfungen durchgeführt. Es erfolgen Impfungen gegen Clostridien und Pastourellen (Ovilis Heptavac P[®] Intervet, Veterinaria AG, Zürich). Das Impfschema beinhaltete eine Grundimmunisierung von 2 Injektionen im Abstand von 4 bis 6 Wochen. Wiederholungsimpfungen folgten jährlich. Für eine Prophylaxe von Moderhinke wurde eine Impfung mit Footvax[®] (Intervet, Veterinaria AG, Zürich, Schweiz) vorgenommen. Diese wurde durch eine zweimalige Grundimmunisierung im Abstand von 4 bis 6 Wochen und dann durch eine halbjährliche Boosterimpfung gewährleistet.

Zweimal im Jahr wurde die Herde mit Cydectin[®] (1ml/5kg KG, Pfizer AG, Zürich, Schweiz) und Hapadex[®] (1.5 ml/10kg KG, Intervet, Veterinaria AG, Schweiz) im Wechsel entwurmt. Die parasitologische Situation wurde mehrmals pro Jahr mit Kotproben kontrolliert.

3.4 Präoperative Vorsorge

Zwei Wochen vor dem chirurgischen Eingriff wurden die für die Studie ausgewählten Tiere vom Staffeleghof in den Institutsstall auf dem Gelände des Tierspitals gebracht. Drei Tage vor dem Eingriff wurde mit dem oben genannten Vacutainer-System Blut entnommen, um den hämatologischen und biochemischen Blutstatus zu bestimmen. Dies gewährleistete, dass es keine gesundheitlichen Kontraindikationen für einen chirurgischen Eingriff gab, die in der allgemeinen Untersuchung nicht aufgefallen waren. Das Blut wurde im Labor des Tierspitals untersucht. Am selben Tag wurden die

Tiere gewogen. Um das Operationsfeld vorzubereiten wurde eine 30 cm x 30 cm große Fläche im Bereich des Rückens und der Hintergliedmaßen geschoren. Darüber hinaus wurde auch im Halsbereich ein kleines Areal für den Venenzugang geschoren.

Zwei Tage vor dem Eingriff wurden die Tiere in eine Box, die mit Sägespänen eingestreut war, umgestellt. Um einer Tympanie vorzubeugen, wurden die Schafe 24 Stunden vor dem Eingriff gehungert. Außerdem wurde die institutsinterne Ohrmarke gegen eine projektbezogene ausgetauscht, die mit der Projektnummer (in diesem Fall 11) und der Nummer des Schafes beschriftet war. Um eine Verwechslung auszuschließen, bekam jedes Tier einen Transponder-Chip (Rid® Data Mars SA, RF – Identification Technology, Bedano-Lugano, Schweiz), der auf der rechten Halsseite subkutan implantiert wurde. Die Nummer des Chips wurde in den Unterlagen vermerkt.

3.5 Anästhesie

Am Tag des Eingriffes wurden die Tiere auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert (Herzfrequenz, Atemfrequenz, Körpertemperatur, Allgemeinbefinden). Danach wurden sie 30 Minuten vor dem Transport in den Operationsraum mit Xylazin (Rompun®, 0.1 mg/kg Körpergewicht) prämediziert, zusätzlich bekam jedes Tier analgetisch Buprenorphine (0.01 mg/kg KG i.m. Temgesic® Reckitt Benckiser AG, Schweiz). Der Transport fand mit einem Handwagen statt. Im Operationsraum wurde die an der Halsseite geschorene Stelle antiseptisch vorbereitet. Dies bestand aus dreimaligem Waschen mit antibakterieller Seife (Hibiscrub®, SSL Healthcare Schweiz AG, Reinach, Schweiz) und der Reinigung der Fläche mit 80 % ketoniertem Ethylalkohol, abschließend wurde noch Chlorhexidin aufgesprüht und mehrere Minuten lang gewartet, um es einwirken zu lassen (Hibitane® Tinktur, SSL Healthcare Schweiz AG, Reinach, Schweiz). Danach wurde ein Venenverweilkatheter (BD Angiocath®, Becton Dickinson, USA) in die Vena jugularis platziert, der mit einem Faden an die Haut angenäht wurde (Supramid® 2-0, B.Braun, Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland). Der Katheter wurde mit einem Verschluss in Form eines IN-Stopper® (Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) versehen. Danach wurden dem Schaf folgende Medikamente verabreicht: analgetisch und entzündungshemmend Caprofen i.v. (Rimadyl®, 4mg/kg, Pfizer AG, Zürich, Schweiz), antibiotische Prophylaxe in Form von Benzylpenicillin natrium i.v. (Penicillin Natrium Streuli AD US: VET., 30'000 I.U./kg, G.Streuli & Co. AG, Uznach, Schweiz) und Gentamicin i.v. (Vetagent®, 4mg/kg, Veterinaria AG, Zürich, Schweiz). Zwischen den einzelnen Medikamenten

wurde mit jeweils 2 ml NaCl 0.9% der Katheter gespült, um eine Ausfällungsreaktion der Medikamente zu verhindern. Eine Tetanus Prophylaxe wurde in Form einer subkutanen Injektion von 3 ml Tetanus Serum (1000 I.U/ml, Tetanus Serum – Intervet, Veterinaria AG, Schweiz) verabreicht.

Die Anästhesie wurde an dem zuvor prämedizierten Tier mit einer Injektion von Diazepam i.v. (Valium®, 0.1mg/kg, Roche Pharma AG, Reinach, Schweiz), Ketamin i.v. (Narketan 10®, 2mg/kg, Vetoquinol AG, Belp-Bern, Schweiz) und Propofol i.v. (Propofol 1% Fresenius, 2-4mg/kg, Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz) eingeleitet. Das Schaf wurde in Sternallage abgelegt und eine Hilfsperson fixierte den Kopf und öffnete das Maul des Tieres, um das Intubieren für den Anästhesisten zu ermöglichen. Die Intubation wurde mittels einer Lokalanästhesie des Kehlkopfes via Mundhöhle mit einigen Sprühstößen Lidocain (Xylocain® Spray, Astra Pharmaceutica AG, Dietikon, Schweiz) vorbereitet. Der nächste Schritt war das Einführen eines Trachealtubus (Größe 10 bis 12 je nach Schaf). Der Anästhesist vergewisserte sich, ob der Tubus richtig platziert war. Zum Abschluss wurde der Tubus am Maul mit Klebeband befestigt, um dessen sichere Lage zu gewährleisten. Während dieser Vorbereitungen wurde das Schaf bei Bedarf mit Propofol in Narkose gehalten.

Die weitere Aufrechterhaltung der Anästhesie wurde durch ein halb geschlossenes Isofluran (Forene®, Abbott AG, fälle Baar, Schweiz) Inhalationsnarkosesystem gewährleistet. Weiterführend wurde das Tier auf den Operationstisch in sternale Lage gelegt und Überwachungsgeräte für Kapnografie, Pulsoxymetrie, Körpertemperatur und EKG angeschlossen. Der arterielle Blutdruck wurde invasiv über die Arteria auricularis gemessen. Um das Absinken der Körpertemperatur infolge der Anästhesie zu verhindern wurde das Bair-Hugger®-Total-Temperatur-Management-System eingesetzt. Über den gesamten Zeitraum des Eingriffes bekamen die Versuchstiere eine Ringer Lactat Infusion (10ml/kg/h) wie auch Propofol über eine Infusionspumpe. Zum Schmerzmanagement gehörte eine Epiduralanästhesie auf Höhe des Foramen lumbosakrale, die mit Morphin HCL durchgeführt wurde (0.1mg/10 kg KG, verdünnt auf 2 ml mit sterilem NaCl 0.9 %). Dies gewährleistete das Ausschalten des Schmerzes bei der Aufrechterhaltung der motorischen Fähigkeiten der Hintergliedmaßen, was für die Aufwachphase essentiell war, um ein Festliegen zu verhindern. Wegen der Gefahr des Austrocknens der Hornhaut der Augen, verabreichte man mehrmals eine Augensalbe (Vitamin A Dispersa®, Novartis AG, Basel, Schweiz).

3.6 Verwendete Implantate

Für diese Studie wurden kommerzielle Standard Titanimplantate (4mm x 8.5mm) des Typs Branmark System MkIII RP (Nobel Biocare®, Göteburg, Schweden) verwendet. Alle Implantate wiesen eine funkenanodisierte feinkristalline, Phosphat-angereicherte, mikroporöse Titanoberfläche (TiUnite®, Nobel Biocare, Göteborg, Schweden) auf. Die unbehandelte Oberfläche wurde als Referenz zu den jeweils mit UV Strahlen oder kaltem Plasma behandelten Implantaten verwendet.. Die genauen Parameter der Plasma- und UV-Behandlung wurden von Seiten des Industriepartners nicht offen gelegt.

3.7 Operation, Implantation, postoperatives Management

Zu den letzten Vorbereitungen vor dem Eingriff gehörte die korrekte Lagerung in sternaler Lage mit leicht zur Seite geneigtem Becken, dies ermöglichte einen guten Zugang zu der zu operierenden Beckenschaufel (in Höhe der linea glutea auslaufend zur Crista Illiaca). Das Operationsfeld wurde, wenn nötig, nachgeschoren und standardmäßig antiseptisch, mit der oben genannten antibakteriellen Seife, Alkohol (80%) und Chlorhexidinlösung gewaschen. Als letztes wurde das OP-Feld mit einem sterilen Tuch abgedeckt. Nach der Lagerung und Vorbereitung des OP-Feldes folgte ein etwa 10 cm langer Schnitt beginnend beim palpierbaren Beckenkamm (Crista iliaca) nach distal führend im unteren Drittel des Os Ileum. Der Schnitt mit einem Skalpell erfolgte parallel zur Längsachse des Tieres. Das Unterhautbindegewebe und das Fettgewebe wurden mit einem Kauter durchtrennt (Berechtoled Elektrotom®, Hausmann, St. Gallen, Schweiz). Gleichzeitig erfolgte eine Stillung eventueller Blutungen. Es folgte die Präparation und Lösung des M. gluteus medius und M. tensor fasciae latae von der Darmbeinschaufel (Ala ossis ilii) mit Hilfe eines Raspatoriums. Das geschah etwa 10 bis 12 cm in Richtung des Schambeins. Zwei Langenbeck-Haken dienten dazu, die Muskeln so zu retrahieren, sodass es möglich wurde, mit der Implantation zu beginnen. Die Implantation begann mit dem Anbringen einer standardisierten Bohrschablone auf der Linea glutea, an der sich der Operateur orientierte. Diese Schablone besaß an beiden Seiten Aussparungen, die als Vorgabe für das Platzieren der Implantate dienten. Es wurden jeweils 5 Implantate ventral und 4 dorsal der Linea Glutea gesetzt. Unter Kühlung mit einer sterilen isotonischen Kochsalzlösung wurden die Pilotbohrungen mit einem handelsüblichen Vectodril-bohrer (Nobel Biocare®, Göteburg, Schweden) durchgeführt. Das Bohrprotokoll bestand insgesamt aus 5 Schritten. Als erstes wurde

ein Führungsbohrer verwendet. Es folgten Bohrer mit aufsteigenden Durchmessern mit jeweils 2 mm, 2.4 mm und 3.4 mm. Das Bohren fand mit 800 Umdrehungen pro Minute statt. Abschliessend wurde maschinell (30 Umdrehungen pro Minute) ein Gewinde mit einem Gewindeschneider (Aussendurchmesser 4.0 mm) geschnitten.

Für die Bohrungen wurden an den Bohrern Tiefenstopps fixiert um eine vordefinierte Tiefe von 7 mm für alle Implantate zu gewährleisten. Die Implantate wurden manuell mit einem Drehmomentschlüssel (Nobel Biocare®, Götheburg, Schweden) eingebracht. Während der Implantation wurde das Anfangs- und Enddrehmoment bestimmt und notiert.

Die Hydrophilie wurde zum Implantationszeitpunkt vom Operateur individuell entsprechend einer vordefinierten Skala bewertet. Dabei wurden 4 unterschiedliche Grade festgesetzt (nicht hydrophil, hydrophil 1+, 2+ und 3+). Die Einteilung geschah je nach Benetzungsverhalten der Oberfläche des Implantates.

Die Primärstabilitätsmessung wurde mittels Resonanzfrequenzmessung durchgeführt (Ostell®, Osseointegration Measurement, Neoss Ltd., England). Dafür musste ein passender Smartpeg (Ostell®, Osseointegration Measurement, Neoss Ltd., England) in das Implantat eingesetzt werden. Die Resonanzfrequenz jeder Position wurde zweimal in einem Winkel von 90° Grad senkrecht zur Längsachse des Implantats gemessen. Nach der Messung wurde der Smartpeg entfernt und eine passende Einheilkappe aufgeschraubt. Das Endergebnis wurde per Fotokamera (Nikon Digital Camera D5000, © 2009 Nikon Corporation) dokumentiert. Danach wurden die gelösten Muskeln (M. tensor fasciae latae und M. gluteus medius) readaptiert

Mit Hilfe eines resorbierbaren Fadens (Polyglactin, Vicryl 2-0, Johnson & Johnson Int., Brüssel, Belgien) wurden deren Sehnen wieder an der Crista iliaca befestigt. Die Fascia pelvina und die Subkutis wurden mit fortlaufenden Nähten (Polyglactin, Vicryl 2-0, Johnson & Johnson Int., Brüssel, Belgien) adaptiert.

Der Hautverschluss erfolgte mit Hilfe eines Staplers (Appose ULV. United States Surgical). Über die geschlossene Wunde wurde ein Verband aus Gaze befestigt, um ein Verschmutzen der Wunde unter Stallverhältnissen zu verhindern. Dasselbe Procedere wurde auf der zweiten Seite bei der Implantation der restlichen 9 Implantate angewendet.

Nach dem Eingriff wurde die Anästhesie beendet, das Tier wurde extubiert und in einem Handwagen liegend in den Stall gebracht. Während der Aufwachphase wurde dem Tier Heu und Wasser angeboten. Es folgte eine mehrfache Kontrolle im Abstand

von 15 Minuten. Die operierten Tiere verblieben für 24 Stunden im Stall des Tierspitals. Danach wurden sie in den institutsinternen Stall transportiert. Das Schmerzmanagement beinhaltete die vierfache Gabe des oben genannten Buprenorphin (0.01mg/kg) im Abstand von 4 Stunden. Darüber hinaus wurde das Tier insgesamt über 4 Tage zur weitergehenden Schmerztherapie einmal täglich mit Caprofen (NSAID) versorgt. Um das Infektionsrisiko nach dem Eingriff zur verringern, bekamen die Tiere über vier Tage Penicillin (30'000 I.U./kg - 2 x tgl.) und Gentamicin (4mg/kg 1 x tgl.). Am vierten Tag post OP wurde der Venenkatheter entfernt. Der Wundverband wurde am fünften Tag entfernt. Nach zehn Tagen wurden die Hautklammern aus der Haut entfernt.

3.8 Fluoreszenz

Im vorliegenden Versuch wurden für die dynamische Repräsentation des Knochenwachstums, Calceingrün (0.5 % Lösung, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Schweiz) , Xylenolorange (9.0 % Lösung, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Schweiz) und Tetracyclin (Engemycin® 10% Intervet, Veterinaria AG, Schweiz), nachfolgend 11, 28 und 54 Tage nach der Operation verabreicht. Die Dosierung für Calceingrün sowie Xylenolorange war 1 ml/kg KG s.c. und für Tetracyclin 1 ml/5kg. Bei der 4-Wochen-Gruppe wurde das Xylenolorange am 26. Tag verabreicht, da diese Tiere am 28. Tag geschlachtet wurden und man sicherstellen wollte, dass der Farbstoff ausreichend Zeit hatte, sich im Knochen anzureichern.

3.9 Probenentnahme und - Beurteilung

Am Schlachttag wurden die zu schlachtenden Tiere aus dem Stall in den eigenen Schlachthof des Tierspitals gefahren. Eine Hilfsperson führte die Schafe einzeln in die Schlachthalle. Dort wurde die Betäubung per Bolzenschussgerät von einem qualifizierten Metzger durchgeführt. Es folgte die Eröffnung der Halsschlagadern. Nach dem ordnungsgemäßen Schlachten und Zurichten wurde aus jeder Hälfte des Schlachtkörpers die jeweilige Beckenhälfte vom Metzger herausgenommen. Das nicht notwendige Gewebe wurde entfernt. Danach wurden die Beckenhälften in Plastiktüten verpackt und mit Papieretiketten versehen. Es wurde Gaze, die mit NaCl 0.9 % getränkt war, beigelegt, um das Austrocknen der Proben zu verhindern.

Für eine lückenlose Dokumentation der gewonnenen Beckenhälften wurden radiologische Aufnahmen mittels Faxitron (LX 60 Laboratory Radiography System®, Faxitron X-ray Corporation, Illinois, USA) durchgeführt. Es wurden zwei Projektionen

angefertigt, dorsoventral und latero-lateral. Auf jeder Projektion wurden die zwei Beckenhälften desselben Schafes dargestellt.

Für die weitere Verarbeitung wurden die Proben aus den Beckenhälften mittels einer Bandsäge (Proxxon GmbH, Föhren, Deutschland) herausgetrennt. Die 9 Proben der linken Beckenseite wurden für die histologische Aufbereitung verwendet. Die restlichen 9 Proben der rechten Beckenseite waren für die biomechanischen Ausdrehversuche, die am nächsten Tag erfolgten, bestimmt.

3.10 Histologie

Die Proben, die für die histologische Aufbereitung bestimmt waren, wurden am Schlachttag in Gläser mit 40% Alkohol eingelegt, wo sie für den Zeitraum einer Woche verblieben. Um das langsame und für das Gewebe schonende Entwässern der Proben zu gewährleisten, wurden sie durch eine aufsteigende Alkoholreihe geführt. Das Wechseln des Alkohols geschah jeweils im Abstand von einem Tag. Des Weiteren wurden die Proben mittels spezieller Vorrichtung mit der oben genannten Bandsäge so zugeschnitten, dass das Implantat parallel zur einer der Seiten des Knochenstückes lag. Das war wichtig für die spätere Einbettung und für das exakte Anfertigen der histologischen Schnitte. Es wurde ein zentraler Schnitt durch das Implantat angestrebt. Nach dieser Prozedur wurden die Proben für sieben Tage in Xylol gelegt wobei das Xylol nach dem dritten Tag gewechselt wurde. Für eine gute Infiltration wurden die Proben im Xylolbad für 2 Tage unter Vakuum gesetzt. Nach diesem Zeitraum wurden die Probenbehälter mit Methylmetacrylat befüllt. Die Gläser wurden wieder unter Vakuum gesetzt und für 7 Tage bei einer Temperatur von 4 Grad aufbewahrt.

Der nächste Schritt war das luftdichte Einbetten der Knochenblöcke in speziellen Teflonformen. Die zum Implantat parallele Knochenseite wurde auf den Boden der Form gelegt. Jede Probe wurde entsprechend gekennzeichnet, um eine Verwechslung zu verhindern. Zudem erhielten die Implantate eine Lasermarkierung im sichtbaren nicht beschichteten Oberflächenbereich. Diese Markierung wurde beim Einbetten kontrolliert und notiert. Dann wurde die Form mit Methylmethacrylat aufgegossen und bei Zimmertemperatur ausgehärtet (20 bis 22 Grad). An die festen Blöcke wurde mit Technovit 3040® (Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland) ein Plastikrahmen angebracht, der eine Einspannung in die Halterung der Innenlochsäge (Leica SP 1600®, Leica Instruments GmbH, Deutschland) ermöglichte.

Mit Hilfe der Innenlochsäge wurde ein Fluoreszenzschnitt, der zwischen 300-400 μm dick war, angefertigt. Der Block wurde so gesägt, dass der Schnitt mittig im Implantat lag. Die fertigen Schnitte wurden mit Wasser und 70% Alkohol gereinigt und über Nacht zwischen zwei Papiertüchern getrocknet, wobei eine zusätzliche Belastung mit 1 kg schweren Metallplatten erfolgte. Am nächsten Tag wurden von den Schnitten Faxitronaufnahmen (27kVp, 11s, Capinet X-ray Faxitron Series, Model 43855A, Hewlett Packard®, Mc Minnville Division, Oregon, USA) angefertigt. Diese wurden digital gespeichert. Der nächste Arbeitsschritt beinhaltete das Aufkleben der Schnitte auf einem Objektträger aus Glas. Um das Ausbleichen des Fluoreszenzmarkers zu verhindern, wurden sie mit Hilfe einer Aluminiumfolie lichtgeschützt verpackt. Das Anfertigen der histologischen Schnitte und die Färbung wurden durch eine externe Firma durchgeführt (Peter Schüpbach GmbH, Horgen). Dort wurden die Schnitte mit einem lichthärtenden Präzisionskleber Technovit 7210 VLC (Kulzer GmbH, Wehrheim, DE) auf Objektträger aufgeklebt und mit einem Exakt-Mikroschleifsystem (Exakt, Norderstedt, DE) mit nassem Schleifpapier und Wasserkühlung plan geschliffen. Nach sorgfältiger Trocknung der Präparate mittels Vakuum in einer Exakt-Blocktrocknungseinheit wurde mit Präzisionskleber ein 2. Objektträger auf die plangeschliffene Fläche geklebt und mit blauem Licht in einer Exakt-Polymerisationseinheit polymerisiert. Mit einer Bandsäge (Exakt-Trenneinheit), ausgerüstet mit einem diamantbeschichteten Band, wurde eine ca. 250 μm dicke Probenschicht, zusammen mit dem Objektträger, weggeschnitten. Diese Proben wurden dann mit der Schleifeinheit und Schleifpapier auf 60 μm Dicke geschliffen und anschließend mit Polierpapier und Diamantpasten (Struers, Ballerup, DK) poliert. Die Färbung der Schliffe erfolgte nach 5 Minuten Anätzung mit 0.7 % Ameisensäure in “Sanderson’s Rapid Bone stain” (Dorn & Hart, Villa Park, USA).

3.10.1 Rasterelektronenmikroskopie

Ausgewählte Proben der Ausdreh-Versuchsserie wurden am Tierspital Zürich longitudinal und zentral in 2 Hälften geschnitten. Diese wurden mit einem lichthärtenden Präzisionskleber Technovit 7210 VLC (Kulzer GmbH, Wehrheim, DE) auf Objektträger aufgeklebt und mit einer Schleifeinheit (Exakt, Norderstedt, Deutschland) mit nassem Schleifpapier und Wasserkühlung sowie mit Polierpapier und Diamantpasten (Struers, Ballerup, DK) plangeschliffen. Nach sorgfältiger Trocknung der Präparate mittels Vakuum wurden die Proben in einer Sputtereinheit SCD 500 (Leica Microsystems,

Herrbrugg) mit einer 6 nm dicken Kohleschicht überdeckt. Die Objektträger mit den aufgeklebten Proben wurden dann auf Aluminiumträger aufgebracht und mit Leitsilberbahnen leitfähig gemacht. Die Proben wurden in einem Zeiss Supra 40 VP Rasterelektronenmikroskop im “backscatter” Modus untersucht. Besondere Aufmerksamkeit galt der Grenzfläche zwischen Knochen und Implantat und der Evaluierung der Bruchfläche, d.h. deren Verlauf entweder entlang der Grenzfläche oder innerhalb der Knochenschicht.

3.10.2 BIC – Bone to Implant Contact

Das Auswerten der histologischen Dickschnitte jedes Implantates in Bezug auf den Knochen-Implantat-Kontakt BIC (Bone to Implant Contact) erfolgte anhand der mit einem Leica DM 6000 Lichtmikroskop (Leica Microsystems, Heerbrugg, Deutschland) und einer 100-fachen Vergrößerung digital aufgenommen Bilder. Ausgehend vom koronalen Ende der Probe wurde eine Bilderserie in apikaler Richtung hergestellt. Apikale Bereiche in der Region der selbstschneidenden Implantatkante des Implantat-Makrodesigns wurden nicht in die Evaluierung einbezogen. Die Bilderserien wurden mit einer geeigneten Software ImageAccess Standard (Imagic AG, Glattbrugg, Schweiz) digital zu einem Bild zusammengestellt. Der BIC wurde entlang der Windungen des Implantates, der im spongiösen Teil des Knochens war, vermessen. Anfangspunkt der Messung war die erste Spitze der Gewindewindung, die nicht mehr in der Knochencortex lag. Danach wurde über die ganze Seite des Implantatquerschnitts bis zur letzten erkennbaren Windungsspitze gemessen. Diese Strecke galt als 100 %. Danach wurden die erkennbaren Teilstrecken, an denen sich Knochen am Implantat gebildet hatten, vermessen. Die erhaltenen Werte wurden addiert und in Relation (Prozent) zum Ausgangswert gesetzt. Dies wurde für die zweite Seite des Implantatquerschnitts wiederholt. Für die statistische Auswertung wurde der Mittelwert aus beiden Messungen verwendet.

3.10.3 Histomorphometrie

Für diese Auswertung wurden die Dickschnitte mit dem Makroskop digital aufgenommen (Image Acces, Imagic AG, Schweiz). Diese Bilder wurden mittels eines Bildbearbeitungsprogrammes manuell nachbearbeitet (Adobe Photoshop CS5, Adobe Systems, San José, CA, USA), sodass man die neu gebildete Knochenmatrix, den alten Knochen und den Weichteilanteil unterscheiden konnte. Danach wurden mittels der

Software Image J (U.S. National Institutes of Health, USA) die prozentualen Relationen dieser Gewebe bestimmt. Die daraus entstandenen Daten wurden in einem Statistikprogramm ausgewertet (SPSS, IBM, USA).

3.11 Biomechanische Auswertung

3.11.1 Ausdrehmomenttest – Removal Torque Test

Alle Implantate der rechten Beckenhälften wurden einem Removal-Torque-Test unterzogen. Diese Messungen erfolgten einen Tag nach der Schlachtung am ARTORG Center in Bern (University of Bern, ARTORG Center for Biomedical Engineering Research, Bern). Die Proben wurden über Nacht in 4 Grad und mit NaCl 0.9 % angefeuchteter Gaze aufbewahrt. Getestet wurde auf einer MTS Mini Bionix 858 (MTS Systems Corporation, Eden Prairie, USA) servohydraulischen Testmaschine. Für die biomechanische Testung wurden die Knochenblöcke in ca. 2.5 cm x 2.5 cm große Formen in Hartgips (GC FUJIROCK® EP Powder 5 kg, GC Europe, Leuven, Belgium) eingebettet. Nach dem Aushärten wurden die Gipsblöcke in vorgekühlte Metallformen platziert, die man mit der Testmaschine verbinden konnte. Vor der Messung wurden die Gipsblöcke mit einer speziellen Legierung (Ostalloy 117, Matallum AG, Pratteln, Schweiz) in den kalten Formen fixiert. Als nächster Schritt wurde das Implantat mit dem Messkopf mittels Zwischenstück verbunden. Der Messkopf erlaubte eine freie Höhenbewegung und behinderte das Implantat nicht beim Ausdrehen. Außerdem wurde mit dieser Vorrichtung eine freie axiale Bewegung gewährleistet, die für die Genauigkeit der Messung von großer Bedeutung war. Die Implantate wurden mit einer Geschwindigkeit von 0.5°/s bis zu einem Winkel von 30° Grad gedreht und das Drehmoment in Nmm aufgezeichnet. Nachdem der Test abgeschlossen war, wurden die in Gips eingebetteten Knochenstücke durch Schmelzen der Metalllegierung gelöst und entfernt. Die Implantate wurden aus dem Knochen gelöst und in einer 70%-igen Alkohollösung gelagert. Die Daten wurden mit dem Computerprogramm MATLAB (Version 6.5, MathWorks, Natick, USA) gefiltert und mit Excel (Microsoft Cooperation, Seattle, USA) weiterverarbeitet. Die maximalen Drehmomentwerte sowie die Kurven der Kraftentwicklung wurden aufgezeichnet.

3.11.2 Resonanzfrequenzmessung

Zusätzlich zur intraoperativen Messung der Primärstabilität mittels Resonanzfrequenz (Ostell®, Osseointegration Measurement, Neoss Ltd., England) wurde eine zweite Messung mit analogem Vorgehen nach der Schlachtung vorgenommen. Dafür wurde das gebildete Narbengewebe und der Kallus um die Implantatschulter, entfernt um einen direkten Zugang zu dem Implantatinterface zu gewährleisten. Es folgte die Resonanzfrequenzmessung, die mittels dem schon in der Operation verwendeten Ostellgerät und den entsprechenden Smart Pegs vorgenommen wurde. Es wurde darauf geachtet, dass der Smart Peg nach jeder Messung sauber war und dass dieser immer mit einer gleichbleibenden Kraft eingedreht wurde.

3.11.3 Statistische Auswertung

Die gewonnenen Ergebnisse wurden mithilfe des Computerprogramms IBM SPSS (Version 19, IBM Corporation, Armonk, USA) auf statistisch signifikante Unterschiede geprüft. Die Daten der deskriptiven Statistik, Mittelwerte und Standardabweichungen, sowie Gesamtunterschiede wurden dabei mittels einer faktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) berechnet. Die Post Hoc Tests für die individuellen Unterschiede erfolgten nach Bonferroni. Ein p-Wert von < 0.05 wurde dabei als signifikant angenommen. Die Ermittlung der Korrelationen erfolgte nach Pearson.

4 Resultate

4.1 Verlauf der Operation und Postoperative Phase

Die Operation konnte bei allen Tieren planmäßig durchgeführt werden und es kam zu keinen Komplikationen. Das Schmerzmanagement erschien ausreichend und die Tiere verfügten innerhalb einer Stunde post OP wieder über ihre vollständige Steh- und Gehfähigkeit. Die Schlachtung aller Versuchstiere konnte termingetreu erfolgen. Während sich bei der Präparation der entnommenen Beckenknochen bei den Schafen der 2-Wochen-Gruppe submuskuläre Hämatome zeigten, konnte man bei der 8-Wochen-Gruppe eine knöcherne Schicht über den Implantaten erkennen. Die Implantate der 4-Wochen-Gruppe zeigten keine sichtbaren oder nennenswerten Auffälligkeiten. Alle Implantate erschienen makroskopisch gut osseointegriert zu sein.

4.2 Implantatgewinnung und makroskopische Resultate

Die Auswertung der Radiografiebilder zeigte keine Frakturen oder pathologischen Prozesse im Umfeld der Implantate. Alle Implantate waren in korrekter Position und nicht gelockert. Es konnten keine osteolytischen Vorgänge festgestellt werden. Makroskopisch zeigte sich bei der 2 Wochen Gruppe über den eingesetzten Implantaten eine Bindegewebeschicht mit serösem Anteil. Bei den 4 und 8 Wochen-Tieren war diese Schicht in konsolidiertes Kallusgewebe umgebaut.

Bei der Zerteilung der Beckenknochen mit einer Lochsäge wurden einige Implantate auf Grund der engen Platzverhältnisse mit reduziertem inter-implantären Raum mit dem Sägeblatt tangential angesägt (11.29 R1, 11.22 R1, 11.31 R1). Nach der Zerteilung des Beckenknochens und Präparation des Weichteilgewebes konnte man erkennen, dass sich bei einigen Implantaten zudem die Implantatspitze auf der gegenüberliegenden Seite in der Knochencortex befand oder diese perforierte. Die angefertigten Mikroradiografien der histologischen Schnitte konnten diese Ergebnisse bestätigen. Insgesamt konnten so 23 Implantate bestimmt werden (0).

4.3 Hydrophilie

Die verwendeten Kontroll Ti Unite® Implantate zeigten keine hydrophilen Oberflächeneigenschaften. Bei der Implantation konnte dies bestätigt werden. Im Gegensatz dazu konnte bei allen Implantaten, die entweder mit Plasma oder UV Strahlung behandelt worden waren, hydrophile Oberflächeneigenschaften

nachgewiesen werden. Man konnte dies optisch bei der Insertion der Implantate in das Bohrloch sehen. An dem Gewinde des Implantates konnte ein rasches aufsteigen von Blut beobachtet werden, was bei den unbehandelten Ti Unite® Implantaten nicht der Fall war.

4.4 Histologische Auswertung

4.4.1 Qualitative Beurteilung der Dickschnitte

Die histologische Beurteilung der Implantate unterstütze die Ergebnisse der Mikroradiologie. Es konnten keine Anzeichen von periimplantären lytischen Prozessen gefunden werden, alle Implantate waren gut eingeeilt und damit auch gut osseointegriert. Die “Sanderson’s Rapid Bone stain”-Färbung (Dorn & Hart, Villa Park, USA) hatte den direkt an das Implantat angelagerten neuen Knochen dunkel blau gefärbt, was es einfach machte diesen von dem helleren „alten“ Knochen zu differenzieren und so die Auswertung zu erleichtern. Man konnte sehr gut die Zunahme der neuen Knochenmatrix in den 2, 4 und 8 Wochen Gruppen beobachten.

4.4.2 Bone to implant contact - BIC

Diese Auswertung der Knochen-Implantat-Kontaktlinie zeigte für die unbehandelten Ti-Unite® Implantate einen nicht signifikanten ($p > 0.05$) Anstieg des BIC Mittelwertes im Verlauf von 2 Wochen ($58.93\% \pm 9.77$) auf 4 Wochen ($70.55\% \pm 15.79$). Nach 8 Wochen konnte ein nicht signifikanter Abfall des Mittelwertes ($62.78\% \pm 7.21$) beobachtet werden ($p > 0.05$). Ein analoges Verhalten der BIC Mittelwerte konnte für die mit UV und Plasma behandelten Ti Unite Implantate im zeitlichen Verlauf festgehalten werden. So wiesen die mit UV behandelten Implantate nach 2 Wochen einen BIC von $64.06\% \pm 12.36$, nach 4 Wochen einen BIC von $69.46\% \pm 15.12$ und nach 8 Wochen einen BIC von $59.25\% \pm 7.07$ auf. Die mit Plasma behandelten Ti Unite Implantate konnten bei der 2-Wochen-Gruppe einen BIC von $55.90\% \pm 6.58$, bei der 4 Wochen Gruppe von $71.42\% \pm 9.14$ und bei der 8 Wochen Gruppe einen BIC $61.08\% \pm 8.72$ erreichen ($p > 0.05$).

4.4.3 Histomorphometrische Auswertung der Dickschnitte

Insgesamt konnte bei der Bestimmung des prozentualen Anteiles von neu gebildeter Knochematrix im peri-implantären Raum kein signifikanter Unterschied ($p > 0.05$) zwischen den Gruppen festgestellt werden. Die UV und Plasma Behandlung der

Implantatoberfläche offenbarte daher nur einen geringen positiven Einfluss auf das Remodeling und die Bildung von neuem Knochengewebe. So zeigten die Mittelwerte des prozentualen Anteils von neuer Knochenmatrix nach 2 Wochen für die unbehandelten Ti Unite® Implantate einen Mittelwert von $33.76\% \pm 5.50$. Im Vergleich dazu wiesen die mit Plasma behandelten Implantate einen Wert von $34.20\% \pm 10.12$ und die mit UV-Bestrahlung behandelten Implantate einen Wert von $29.97\% \pm 2.82$ auf. Im weiteren Verlauf von 4 Wochen manifestierte sich für die unbehandelten Ti Unite® Implantate ein Mittelwert von $42.87\% \pm 14.21$, für die mit Plasma behandelten Implantate von $42.64\% \pm 11.08$ und für die mit UV-Licht behandelten Implantate von $40.31\% \pm 9.53$.

Die Mittelwerte nach 8 Wochen zeigten abermals eine ähnliche prozentuale Verteilung zwischen den Gruppen ohne signifikante Unterschiede. So konnte bei den unbehandelten Ti Unite® Implantaten ein Mittelwert von $48.89\% \pm 11.72$ bei den mit Plasma behandelten Implantaten von $48.37\% \pm 14.17$ und bei den mit UV-Licht behandelten von $49.97\% \pm 13.12$ festgehalten werden.

Auch für die Bestimmung des prozentualen Anteiles der alten Knochematrix im peri-implantären Raum konnten keine signifikanten Unterschiede ($p > 0.05$) zwischen den Gruppen festgestellt werden. Die UV und Plasma Behandlung der Implantatoberfläche zeigte nur einen geringen Einfluss auf die Umbauprozesse des alten Knochengewebes. So zeigten die Mittelwerte des prozentualen Anteils der alten Knochenmatrix nach 2 Wochen für die unbehandelten Ti Unite® Implantate einen Mittelwert von $8.31\% \pm 4.14$. Im Vergleich dazu wiesen die mit Plasma behandelten Implantate einen Wert von $9.52\% \pm 2.99$ und die mit UV-Bestrahlung behandelten Implantate einen Wert von $10.32\% \pm 5.57$ auf.

Im weiteren Verlauf von 4 Wochen zeigte sich für die unbehandelten Ti Unite® Implantate ein Mittelwert von $8.83\% \pm 5.29$, für die mit Plasma behandelten Implantate von $8.67\% \pm 5.19$ und für die mit UV-Licht behandelten Implantate von $8.67\% \pm 3.20$.

Die Mittelwerte nach 8 Wochen zeigten wieder eine ähnliche prozentuale Verteilung zwischen den Gruppen ohne signifikante Unterschiede. So konnte bei den unbehandelten Ti Unite® Implantaten ein Mittelwert von $2.75\% \pm 2.31$ bei den mit Plasma behandelten Implantaten von $1.68\% \pm 3.00$ und bei den mit UV-Licht behandelten von $2.43\% \pm 2.48$ festgehalten werden.

Bei der Auswertung der Weichgewebeanteile im Implantat-nahen-Bereich zeigte ebenfalls keine signifikante Unterschiede ($p > 0.05$) zwischen den Gruppen. Die

Mittelwerte des prozentualen Anteils des Bindegewebes nach 2 Wochen war für die unbehandelten Ti Unite® Implantate $57.91\% \pm 7.38$. Im Vergleich dazu wiesen die mit Plasma behandelten Implantate einen Wert von $56.26\% \pm 12.51$ und die mit UV-Bestrahlung behandelten Implantate einen Wert von $59.70\% \pm 6.38$ auf.

Für die 4 Wochen Gruppe zeigte sich für die unbehandelten Ti Unite® Implantate ein Mittelwert von $48.29\% \pm 13.86$, für die mit Plasma behandelten Implantate von $48.67\% \pm 13.63$ und für die mit UV-Licht behandelten Implantate von $51.01\% \pm 10.77$.

Die Mittelwerte der 8 Wochen Gruppe konnten keine signifikanten Unterschiede aufzeigen. Wieder war eine ähnliche prozentuale Verteilung zwischen den Gruppen zu sehen. So konnte bei den unbehandelten Ti Unite® Implantaten ein Mittelwert von $48.35\% \pm 13.00$ bei den mit Plasma behandelten Implantaten von $49.94\% \pm 14.99$ und bei den mit UV-Licht behandelten von $47.58\% \pm 12.27$ festgehalten werden.

Bei der Auswertung der Bildung von neuer Knochenmatrix im umliegenden Gewebe (Surrounding) fiel auf, dass bei allen drei Gruppen der prozentuale Anstieg an neuem Knochen im zeitlichen Verlauf tendenziell gleich verlief. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen beobachtet werden ($p > 0.05$). Nach 2 Wochen zeigten die unbehandelten Ti Unite® Implantate einen prozentualen Anteil (Mittelwert) von neugebildeter Knochenmatrix im Surrounding von $15.40\% \pm 4.81\%$, die mit Plasma behandelten Implantate von $17.75\% \pm 4.89$ und die mit UV-Licht behandelten Implantate von $15.99\% \pm 4.26$. Nach 4 Wochen lag der Mittelwert bei den Kontroll-Ti Unite® Implantaten bei $27.12\% \pm 10.61$, bei den mit Plasma behandelten Implantaten bei $26.86\% \pm 9.94$ und bei den UV behandelten Implantaten bei $22.53\% \pm 4.69$. Für alle drei Gruppen konnte nach 8 Wochen ein weiterer Anstieg verzeichnet werden, der weder innerhalb einer Gruppe, noch zwischen den Gruppen signifikant war. Die unbehandelten Ti Unite® Implantate zeigten einen Mittelwert von $38.57\% \pm 9.72$, die mit Plasma behandelten Implantate von $39.60\% \pm 11.03$ und die UV-bestrahlten Implantate von $42.54\% \pm 11.39$.

Die Auswertung der Rückbildung und der Umbauprozesse im alten Knochengewebe im umliegenden Gewebe (Surrounding) fiel auf, dass auch hier bei allen drei Gruppen der prozentuale Abfall des alten Knochengewebes in den 2, 4 und 8 Wochen ähnlich verlief. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen beobachtet werden ($p > 0.05$). Bei den mit UV und Plasma behandelten Implantaten konnte keine statistisch signifikante Erhöhung der Werte festgestellt werden ($p > 0.05$). Nach 2 Wochen zeigten die unbehandelten Ti Unite® Implantate einen prozentualen Anteil (Mittelwert) von

alter Knochenmatrix im Surrounding von $30.12\% \pm 9.03$, die mit Plasma behandelten Implantate von $30.05\% \pm 5.85$ und die mit UV-Licht behandelten Implantate von $26.08\% \pm 6.38$. Nach 4 Wochen lag der Mittelwert bei den Kontroll-Ti Unite® Implantaten bei $22.73\% \pm 6.19$, bei den mit Plasma behandelten Implantaten bei $21.71\% \pm 7.06$ und bei den UV behandelten Implantaten bei $26.08\% \pm 6.38$. Für alle drei Gruppen konnte nach 8 Wochen ein weiterer Anstieg verzeichnet werden, der weder innerhalb einer Gruppe, noch zwischen den Gruppen signifikant war. Die unbehandelten Ti Unite® Implantate zeigten einen Mittelwert von $19.34\% \pm 6.09$, die mit Plasma behandelten Implantate von $16.21\% \pm 6.12$ und die UV-bestrahlten Implantate von $19.94\% \pm 6.87$.

Die Verhältnisse in der Auswertung des Weichteilanteils im umliegenden Gewebe konnten auch keine signifikanten Unterschiede ($p > 0.05$) zwischen den Gruppen aufzeigen. Die Mittelwerte des prozentualen Anteils des Weichteilgewebes nach 2 Wochen für die unbehandelten Ti Unite® Implantate war $54.47\% \pm 11.31$. Im Vergleich dazu wiesen die mit Plasma behandelten Implantate einen Wert von $52.18\% \pm 6.63$ und die mit UV-Bestrahlung behandelten Implantate einen Wert von $57.92\% \pm 6.25$ auf.

Im weiteren Verlauf von 4 Wochen zeigte sich für die unbehandelten Ti Unite® Implantate ein Mittelwert von $50.13\% \pm 13.34$, für die mit Plasma behandelten Implantate von $51.43\% \pm 12.23$ und für die mit UV-Licht behandelten Implantate von $53.86\% \pm 10.44$.

Die Mittelwerte nach 8 Wochen gestalteten sich in einer ähnlichen prozentualen Verteilung zwischen den Gruppen ohne signifikante Unterschiede. So konnte bei den unbehandelten Ti Unite® Implantaten ein Mittelwert von $42.09\% \pm 13.63$ bei den mit Plasma behandelten Implantaten von $44.18\% \pm 14.58$ und bei den mit UV-Licht behandelten von $38.51\% \pm 12.08$ festgehalten werden.

4.4.4 Fluoreszenzauswertung

Bei der Auswertung der Fluoreszenzschnitte konnte man semiquantitativ die Umbauprozesse darstellen, die zu den drei verschiedenen Zeitpunkten (11., 28. und 54. Tag) stattfanden. Die Calceingrünmarkierung zeigte nach 11 Tagen einen deutlichen Zuwachs an neuer Knochenmatrix im spongiösen Teil des Beckenknochens an (leuchtend grün). Diese neue Knochenmatrix bildete sich meist direkt im Interface zwischen Implantatoberfläche und umliegenden Knochen in den Windungen des Implantates. In Bereich der Kortikalis konnte man insgesamt zu diesem Zeitpunkt

weniger Fluoreszenz und damit Umbauaktivität erkennen. Nach 28 Tagen zeigte Xylenolorange im spongiösen Knochen eine intensive Fluoreszenz speziell im Interfacebereich. Der neue Knochensaum, der nach elf Tagen durch die Calceinfärbung hellgrün detektiert werden konnte, war nach 28 Tagen weiter ausgedehnt und leichte beginnende trabekuläre Strukturen konnten vereinzelt erkannt werden. Darüber hinaus konnte man auch leichte physiologische Umbauprozesse im Surrounding beobachten. Im kortikalen Teil konnte im Gegensatz zu der 2 Wochen Markierung mit Calceingrün nun auch eine gesteigerte Aktivität festgestellt werden. Eine intensive leuchtende Bande zeigte sich direkt am Implantat-Knochen-Kontakt. Das nach 54 Tagen applizierte Tetracyclin konnte nur noch eine minimale Knochenneubildung darstellen. Am gesamten Implantat liessen sich insbesondere im spongiösen Knochenanteil vereinzelte Aktivitätsherde erkennen. Diese zeigten sich auch wiederum im Surrounding.

4.5 Biomechanische Auswertung

4.5.1 Installationsdrehmoment

Die Auswertung des Installations-Drehmoment-Werte, die jeweils beim initialen Einsetzen und am Endpunkt des Eindrehvorgangs festgehalten wurden, zeigte keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen. Bei Kontrollimplantaten, als auch bei experimentellen Implantaten lag das Enddrehmoment immer höher als das Anfangsdrehmoment. Insgesamt lagen die Ergebnisse in einem engen und gleichbleibenden Wertebereich.

4.5.2 Resonanzfrequenzmessung

In Analogie zu den Eindrehwerten konnten bei der Resonanzfrequenzmessung konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden ($p > 0.05$). Zum Zeitpunkt der Implantation, als auch zum Zeitpunkt der Schlachtung zeigten alle Implantate ähnliche Werte. Dabei lagen die Werte zum Zeitpunkt der Schlachtung über den Werten der Implantation. Interessanterweise konnten zwischen den jeweiligen gruppen-internen Werten von 2, 4 und 8 Wochen kaum Unterschiede im Bezug auf einen weiteren Stabilitätszugewinn festgehalten werden.

4.5.3 Removal Torque Test

Die biomechanischen Ergebnisse aus dem Removal-Torque-Test konnten die histologischen Werte belegen. Insgesamt konnten zwischen den drei Gruppen keine

signifikanten Unterschiede ($p > 0.05$) unabhängig vom Zeitpunkt festgestellt werden. Im zeitlichen Verlauf zeigten sowohl die unbehandelten Kontrollimplantate, als auch die beiden experimentellen Gruppen einen Anstieg der Mittelwerte von 2 nach 4 Wochen. Zum 8 Wochenzeitpunkt konnte bei allen drei Gruppen wieder ein leichter Abfall der Werte beobachtet werden. Im Detail lagen die Mittelwerte der Ausdrehversuche nach 2 Wochen bei den unbehandelten Ti Unite® Implantaten bei 674.95 ± 157.35 Nmm, bei den mit Plasma behandelten Implantaten bei 647.89 ± 190.41 Nmm und bei den mit UV-Licht behandelten Implantaten bei 716.79 ± 159.72 Nmm. Nach 4 Wochen lagen die korrespondierenden Werte für Kontroll-Implantate bei 1267.03 ± 337.01 Nmm, für Plasma behandelte Implantate bei 1483.93 ± 334.89 Nmm und für UV-Licht behandelte Implantate bei 1249.33 ± 305.22 Nmm. Der Abfall der Removal-Torque-Werte nach 8 Wochen manifestierte sich dann bei den unbehandelten Ti Unite® Implantaten bei einem Wert von 1166.85 ± 351.20 Nmm, bei Plasma behandelten Implantaten von 1228.33 ± 170.34 Nmm und bei mit UV-Bestrahlung behandelten Implantaten von 1268.60 ± 295.34 Nmm.

5 Diskussion

5.1 Versuchsmodell und Versuchsablauf

In der vorliegenden Studie sollte der Einfluss von Ultraviolett-Licht (UV) oder Plasmabehandlung auf die Oberflächenhydrophilie und das damit verbundene Osseointegrationsverhalten von Standard-Titan-Zahnimplantaten (Ti-Unite®, Nobel Biocare Göteborg, Schweden) im Schafsmodell analysiert werden. Es wurden zwei experimentelle Gruppen (UV und Plasma) und eine Kontrollgruppe (keine Behandlung) zu den Beobachtungszeiträumen von 2, 4 und 8 Wochen untersucht. Die angestrebte Hydrophilie konnte mit der UV- und Plasmabehandlung erreicht werden, jedoch konnten keine signifikanten Unterschiede in den Ergebnissen der biomechanischen und histologischen Auswertung gegenüber der Kontrollgruppe im Tiermodell beobachtet werden.

Bei der Auswahl eines geeigneten Tiermodells für eine Studie ist es wichtig, dass die Abläufe reproduzierbar, und dass die biologischen Abläufe ähnlich denen im menschlichem Körper sind¹⁰⁹. Zudem sind die Grundsätze von „Reduce“, „Refine“ und „Replace“ bei der Suche nach dem geeigneten Versuchstier eine wichtige Voraussetzung. Da der Knochenmetabolismus des Schafes ähnlich dem des Menschen ist, wurden im vorliegenden Versuch Schafe verwendet, da diese als Versuchstiere auch seit längerem erfolgreich in der Knochenforschung eingesetzt werden¹¹⁰. Schafe haben zwar z.B. eine höhere Knochendichte im Vergleich zum Menschen, die im trabekulären Knochen um den Faktor 1.5 - 2 höher sein kann¹⁰⁹, aber die mineralische Zusammensetzung kommt der des menschlichen Kieferknochens sehr nahe^{109,111-113}. Dies ist speziell bei jüngeren Tieren der Fall¹¹³. Das Knochenremodeling läuft in ähnlicher Geschwindigkeit wie beim Menschen ab¹¹¹.

In dieser Studie hat man sich zudem für das etablierte und in unserem Institut regelmäßig mit Erfolg eingesetzte „Beckenmodell“ im Schaf entschieden, da sich mit diesem Modell die zu untersuchenden Parameter im Bezug auf das Knochenremodelling sehr treffend abbilden lassen^{109,110,114,115}. Das Beckenmodell im Schaf wurde insbesondere gewählt, da der Beckenknochen ähnliche Knocheneigenschaften wie der Kieferknochen aufweist. Ausserdem lässt sich in diesem Set-up eine Kontamination durch oralpathogene Keime verhindern. Im Os ilium ist es zudem möglich eine hohe Anzahl an Implantaten einzusetzen. Damit erreicht man, dass die zu vergleichenden Implantate in einem relativ großen Gebiet annähernd gleicher

Knochenqualität auf ihre Fähigkeit zur Osseointegration geprüft werden können (Reduce and Refine).

5.2 Histologische Auswertung

Die Bestimmung des Knochen-Implantat-Kontaktes (Bone to Implant Contact, BIC) stellt eine wissenschaftliche Standardmethode in der Implantologie zur Messung der Knochenkontaktstrecke am Implantat dar^{2,5,116}. In unserer Studie erfolgte die Messung im spongiösen Knochen von der ersten bis zur letzten erkennbaren Windungsspitze. Der Fokus wurde absichtlich auf den spongiösen, trabekulären Knochen gesetzt um die unterschiedlichen knöchernen Prozesse, die durch die Behandlungen der Implantatoberflächen induziert wurden, in dem gewählten Zeitfenster von 2-8 Wochen treffend abbilden zu können. Da der kortikale Knochen eine tendenziell langsamere Umbaurate aufweist als der trabekuläre Knochen, sind folglich auch Remodellingprozesse und Änderungseinflüsse in dieser Phase schwieriger und nur bedingt nachweisbar. Obgleich das Verfahren standardisiert ist, können bei der Anfertigung der Proben immer wieder Schwierigkeiten auftreten, wie z.Bsp. die Implantatachse genau so längs zu schneiden, dass spezifische Implantatmakrostrukturen die Messung des BIC nicht einschränken. Im vorliegenden Fall führte das individuelle Makrodesign der Implantate mit charakteristischen Aussparung im apikalen Anteil zu einer verminderten auswertbaren Strecke des BIC (im 2D Querschnitt) bei einigen Implantaten. Um die Problematik mit diesem Implantattyp in Zukunft vermeiden zu können wäre eine vorherige z.B. Lasermarkierung der Ausrichtung notwendig. Im vorliegenden Versuch wurde der „neue Knochen“, der sich in der Region dieser Kerbe an das Implantat angelagert hat, nicht in die Messung mit einbezogen, da in der Aussparung Knochensplitter aus der initialen Implantatbettbohrung zu sehen waren. Eine quantitative sowie qualitative Auswertung des Remodellings wäre also durch diese Knochensplitter beeinträchtigt worden und hätte zu einer möglichen Fehlinterpretation des spongiösen Knochenremodellings führen können.

Als Alternative zu einer Lasermarkierung wäre auch ein modifizierter Ansatz der BIC Messung denkbar, wie er auch schon in anderen Studien vorgeschlagen worden ist^{117,118}. Man kann z.B jede Windungsspitze als einzelnen Sektor vermessen und einzelnen Sektoren separat statistisch auswerten. Im vorliegenden Fall schien eine messbare Strecke von bis zu 18 Windungsspitzen pro Implantat (2 Seiten des Implantates mit bis

zu 9 messbaren Windungsspitzen) mehr als ausreichend für eine gute statistische Auswertung.

Bei der histomorphometrischen Auswertung zeigte sich, dass alle verwendeten Implantate vergleichbare osseointegrative Eigenschaften aufwiesen. Man konnte einen Anstieg an neuer Knochenmatrix bei allen Implantaten zwischen 2 und 4 Wochen beobachten. Dabei war auffällig, dass die Knochenneubildung insbesondere im Interface-Bereich am deutlichsten zum Vorschein trat. Dies lässt sich einerseits mit der typisch erhöhten physiologischen Knochenregenerationsrate nach einem knöchernen Präparationstrauma, andererseits mit der wissenschaftlich belegten positiven Oberflächenwirkung der Ti-Unite® Beschichtung erklären^{60,119}. Durch die Osteotomie und mechanische Aufbereitung des Bohrstollens wurde durch eine enzymatisch Kaskadenreaktion die periimplantäre Neo-osteogenese ausgelöst¹²⁰. Die charakteristische mikrorauhe Oberflächenstrukturierung der Implantate diente dabei als zusätzlicher Promotor um das entstandene Blutkoagel zu stabilisieren und die lokale Entzündungsmediation zu vermitteln⁵⁶. Nach der initialen intensiven Bildung von neuem Matrixgewebe zur Regeneration und Reparation des knöchernen Defektes kam es dann im Laufe von 6-8 Wochen zu einer Konsolidierungsphase, die sich in einem prozentualen Abfall an neugebildeter Knochensubstanz darstellte. Dies entsprach in der vorliegenden Studie den geringeren Mittelwerten an neuer Matrix in den jeweiligen 8 Wochengruppen. In diese Wundheilungsphase kommt es beim Menschen als auch im Schafsmodell zu einer Umwandlung von unreifer Knochenmatrix in reife, strukturierte und zum Teil bereits lamelläre Knochenstruktur^{109,121}. Dementsprechend steigt der Anteil an reifer Knochenmatrix (old matrix). Entscheidend ist in dieser Phase ein geringer Anteil an fibrösen Weichteilstrukturen, da diese eine eingeschränkte oder gar fehlende Osseointegration bedeuten würden. Wiederum konnten mit den in dieser Studie gemessenen Werten, dieses physiologische Phänomen belegt werden. Insgesamt kann daher der anfängliche Anstieg der Knochenneubildung von 2 auf 4 Wochen, sowie der leichte Abfall der Werte nach 8 Wochen mit den Umbauprozessen im Knochen in Verbindung gebracht werden, wie er in der Literatur beschrieben wird^{122,123}.

Trotz dieser positiven Resultate, die sich mit den aus der Literatur bekannten Daten zur Ti-Unite® Oberfläche decken^{45,124,125}, konnten jedoch keine klaren Vorteile im Bezug auf die Osseointegration für die mit UV-Licht oder Plasma behandelten Implantate nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu, konnten in früheren in-vitro Studien, die positiven Eigenschaften einer gesteigerten Hydropilie auf den Osseointegrationsprozess

von Zahnimplantaten, bereits dargestellt werden⁴⁴. Dabei zeigten sich im Zellversuch vor allem die Proteinanlagerung und das Zellenwachstum durch die Hydrophilie in ihrer Aktivität stark gefördert. In Analogie zur vorliegenden Studie, wurde dabei die Hydrophilie und damit die Anlagerung von Proteinen und Knochenzellen durch eine UV und Plasmabehandlung stark beeinflusst^{46,47,126}.

Im Gegensatz zu den oben genannten in-vitro Untersuchungen wurde im vorliegenden Fall ein experimentelles Beckenmodell im Schaf verwendet. Mit seinem hohen Anteil an spongiösen Knochen, besitzt es daher einen grossen Anteil an aktiven Osteoblasten, was eine gute Annäherung an eine reine Osteoblastenkultur im Zellversuch erlauben sollte. Wie bereits erwähnt, eignen sich dagegen die in der Literatur oft verwendete Kaninchen Tibia-Modelle sowie Hunde Unterkiefer-Modelle wegen ihrem hohen Anteil an kortikalen Knochen mit eingeschaideten Osteozyten weniger um Ergebnisse aus reinen Osteoblastenkulturen abzubilden^{47,111}. Es könnte in diesen Fällen eventuell sein, dass der positive Effekt der Oberflächenbehandlungen durch den anorganischen Anteil der Knochenmatrix reduziert wird. Das würde auch die geringere Wirkung der UV und Plasmabehandlung im kortikalen Anteil des Beckenknochens erklären. Diese zeigte sich eben nicht nur in der histomorphometrischen Auswertung, sondern wurde auch durch die fluoreszenzmikroskopische Analyse untermauert. Zudem muss man bedenken, dass im Gegensatz zu einer reinen Osteoblastenkultur die Umbauprozesse im Schaf einem phylogenetischen-chronobiologischen Prozess untergeordnet sind, die den zeitlichen „turnover“ der vorhandenen Knochenmorphologie determinieren. Diese Prozesse können im in-vivo Versuch nicht über das physiologische Mass hinaus beschleunigt werden, da die lokalen Prozesse mit dem Gesamtmetabolismus zusammenhängen.

Ein anderer Aspekt den man in diesem Zusammenhang bedenken muss ist, dass sehr raue Oberflächen (unter $2\mu\text{m}$) durch ihre grössere Oberfläche alleine schon die Anlagerung von Proteinen wie Fibronectin und Vitronectin fördert. In der Folge steigt damit auch die Zahl der gebundenen Osteoblasten^{127,128}. Eine weitere Steigerung dieser physiologischen Prozesskaskaden, wie sie durch die Plasma und UV Behandlung hypothetisch angenommen wurden, ist also bei TiUnite® Implantaten mit einer mikrorauen Oberfläche nur schwer bzw. bedingt nachweisbar. Die ausgezeichneten, osseointegrativen Eigenschaften der verwendeten TiUnite® Implantate, die durch Funkenanodisierung eine Oberflächenrauigkeit von $< 2\mu\text{m}$ aufweisen, konnten in der Vergangenheit schon in zahlreichen Studien belegt werden^{129,130}. Eine signifikante Steigerung war daher im gewählten Modell daher auch nur sehr bedingt zu erwarten.

5.3 Biomechanik

Wie in den Resonanzfrequenzmessungen und Removal-Torque-Messungen entnommen werden kann, konnten in der vorliegenden Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen im Bezug auf die biomechanische Stabilität beobachten können. Durch die Wahl des identischen Implantat-Makrodesigns für alle Implantate lassen sich diese Ergebnisse mit der histologischen Analyse in Einklang bringen. Da in der Histologie bereits keine entscheidenden Vorteile für die Osseointegration durch die UV und Plasmabehandlung nachgewiesen werden konnten, unterstützen die biomechanischen Resultate diese Ergebnisse.

Bei der Resonanzfrequenzmessung konnte in unserer Studie festgestellt werden, dass das richtige Platzieren des Smart Peg in die Implantat-Abutment-Verbindung eine entscheidende Rolle spielt. So stellte sich heraus, dass in einem mit Flüssigkeit verunreinigten Implantat-Innengewinde die Messungen einen um 5 bis 10 Messpunkte erniedrigten Wert ergaben. Zudem hatte das Eindrehmoment des Smart Peg einen ausschlaggebenden Einfluss auf die Messung. Mit steigender Eindrehkraft erhöhten sich die Messwerte um einige Punkte. Dies lässt darauf schließen, dass es für die Resonanzfrequenzmessung von sehr großer Wichtigkeit ist, dass man das Verfahren einheitlich gestaltet. Ein Drehmomentschlüssel wäre von großer Hilfe, um das Einbringen des Smart Pegs mit immer derselben Kraft zu ermöglichen und damit eine optimale Verbindung zwischen Smart Peg und Implantat-Innengewinde zu gewährleisten. Dies würde es ermöglichen die Ergebnisse zwischen einzelnen Studien besser vergleichen zu können, was nach unserem Wissen bis dato nicht der Fall ist. Aus diesem Grunde findet man in der Literatur auch sehr unterschiedliche und zum Teil widersprüchliche Werte in ähnlichen Studiendesigns. Dies hat zur Folge, dass die Resonanzfrequenzmessung sehr kritisch beurteilt wird und in vielen Fällen keine Korrelation zu den biologischen wie auch andern biomechanischen Messmethoden zulässt^{116,131,132}.

Der Einheilungsprozess eines Implantates und der damit verbundene Zugewinn an Stabilität laufen in einem dynamisch Zusammenhang ab. Auf die durch einen sog. „Press Fit“ erreichte Primärstabilität, die in den meisten Fällen klinisch während der OP mittels einer Resonanzfrequenzmessung evaluiert wird, folgt die Sekundärstabilität, die durch die Osseointegration charakterisiert wird. Im Zuge der Entwicklung einer Sekundärstabilität kommt es zunächst zu einem leichten Abfall der Stabilität. Dies liegt an den physiologischen Umbauprozessen im Knochen, die zunächst nur eine relativ

weiche und widerstandsarme neue Knochenmatrix zulassen. Im weiteren Verlauf reift die Matrix durch Einbau von kristallinen Strukturen und das Implantat wird dadurch dauerhaft im Knochen fixiert.

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, den Einfluss der Oberflächenhydrophilie auf die Osseointegration (Sekundärstabilität) von Zahnimplantaten zu untersuchen. Dieses Phänomen eines positiven Zusammenhanges zwischen Hydrophilie und Removal-Torque-Werten konnte bereits in anderen Studien festgestellt werden¹¹².

Die Auswertung der Daten, die bei den Ausdrehversuchen in der vorliegenden Studie gesammelt wurden, konnten die Ergebnisse aus der Literatur teilweise unterstützen. Zwar konnte man eine positive Tendenz bei den Mittelwerten zu Gunsten der mit UV behandelten Implantate in der 2-Wochen-Gruppe finden, womit sich eine Verbesserung des Einheilverhaltens in der Frühphase nachweisen ließe, jedoch waren diese Werte statistisch nicht signifikant.

Ein ähnliches Bild zeigt sich bei der Auswertung der Resonanzfrequenzmessung. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kontroll- und den mit UV und Plasma behandelten Implantaten belegt werden. Der nicht signifikante Abfall der ISQ-Mittelwerte zwischen 4 und 8 Wochen liegt im Rahmen, der in der Literatur genannt wird, und steht im Zusammenhang mit den im Knochen ablaufenden Umbauprozessen¹²². Die Tatsache, dass dieser Abfall der Werte nicht schon zwischen der 2- und 4-Wochen-Gruppe zu sehen ist, kann daran liegen, dass bei den von uns verwendeten Schafen individuell eine sehr dicke Knochenkortex je nach Position im Becken vorhanden war, und somit die Primärstabilität stark beeinflusst wurde. Zu dem höheren Anteil der Kortex, die eine große Rolle bei den mechanischen Werten spielt, muss man auch sagen, dass das „Remodelling“ im spongiösen Knochen bereits nach 2 Wochen im Gange ist, während dieser Prozess in der Kortex meistens erst nach 4 bis 6 Wochen seinen Höhepunkt zeigt. Somit könnte dies auch eine Ursache der Verschiebung des Zeitraums sein, in dem die Werte sich verändern. Ein weiterer Faktor, der die Resultate beeinflusste, war die Penetration der gegenüberliegenden Knochenkortex. Dieses Phänomen nimmt einen entscheidenden Einfluss auf die biomechanischen Werte und liess sich trotz der Auswahl von großen, ausgewachsenen Tieren nicht ganz verhindern. Dieses Problem tritt nicht nur im Beckenmodell im Schaf auf, sondern lässt sich z. B. beim oft verwendeten Kaninchen–Tibia-Modell oftmals nicht verhindern¹³³. Man könnte diese Einschränkung zwar durch die Wahl von kürzeren Implantaten umgehen, doch dann wäre die in der Histologie auswertbare Implantatlänge kürzer und die Idee der

Verwendung von Standardimplantaten wäre nicht ausführbar. Aus diesem Grunde wurden in der vorliegenden Studie auch die kürzesten kommerziell hergestellten Ti-Unite®-Implantate verwendet.

Zu den hohen Ausdrehwerten lässt sich zudem festhalten, dass Schafe, wie oben beschrieben, eine geringgradig höhere Knochendichte im trabekulären Knochen als Menschen aufweisen. In Verbindung mit unseren Implantaten mit einer moderat rauen Oberfläche, lassen sich so die sehr guten Removal-torque- und Resonanzfrequenzwerte erklären^{111,134}. Bereits Elias et al. konnten mit einem ähnlichen Implantattyp mit anodisierte Oberfläche sehr hohe Removal-torque-Werte nachweisen⁷⁷.

5.4 UV und Plasma Behandlung - Hydrophilie

Alle mit UV-Licht und Plasma behandelten Implantate zeigten klinisch einen starken Anstieg an hydrophilen Eigenschaften (meistens 3+ auf einer Skala von 0 bis 3 +). Aus praktischer Sicht war das Behandlungsprotokoll für die UV Behandlung in der Anwendung einfach und könnte für die Praxis ohne weitere Probleme adaptiert werden. Die Implantate zeigten zum Implantationszeitpunkt niemals eine Temperaturerhöhung. Auch andere makroskopische negative Nebenwirkungen wie z.B. Absplitterungen oder Verfärbungen der Oberflächenbeschichtung konnten nicht beobachtet werden. Die für die Bestrahlung nötige Apparatur liess sich leicht und ohne aufwendige Instruktionen bedienen. Durch die handliche Grösse, konnte das Gerät problemlos in der entsprechenden Infrastruktur im Operatioossaal oder Labor bedient und gelagert werden. Ein weiterer Vorteil war, dass mehrere Implantate gleichzeitig behandelt werden konnten.

Insgesamt konnte so bei allen Implantaten die Oberflächenenergie und damit die Hydrophilie in einfacher Weise erhöht werden. Zudem wurden die Oberfläche durch die UV-Strahlung zusätzlich gereinigt, ohne dass die Titanoxidschicht, die die Biokompatibilität gewährleistet, angegriffen wurde^{101,135}.

Im Gegensatz dazu war die Plasmabehandlung etwas aufwendiger. Die eigentliche Plasmaquelle war recht groß und man musste jedes Implantat einzeln vor dem Einsetzen behandeln. Durch die Notwendigkeit das vorgesehene Bestrahlungsprotokoll exakt einzuhalten, wurde die manuelle Anwendung zusätzlich erschwert. Sowohl der Abstand der Strahlquelle zum Implantat als auch die Kontrolle, die gesamte Oberfläche und alle Windungen bestrahlt zu haben, musste durch das Behandlungsteam gewährleistet sein. Für den klinischen Einsatz ist dieses Vorgehen sehr aufwendig und zeitintensiv.

Für einen routinemässigen Einsatz wäre eine Verkleinerung der notwendigen Instrumente und eine einfachere Handhabung wünschenswert. In unserer Studie zeigte sich zudem, dass die Implantate durch die Anwendung des Plasmas angewärmt wurden. Um einer thermischen Belastung vorzubeugen, wurde nach der Bestrahlung daher immer zwischen einer und fünf Minuten gewartet um das Abkühlen des Implantates zu gewährleisten. Für eine weitere Entwicklung dieser Technologie wären daher Bestrahlungsprotokolle, die eine Abkühlphase überflüssig machen, sinnvoll. Die Parameter wie Gasflussraten, Behandlungszeiten und Gasart, die die Hydrophilie und die gewünschten Oberflächeneigenschaften gewährleisten, müssten in diesem Zusammenhang für jeden Implantattyp festgesetzt werden.

Ein weiteres Anwendungsspektrum für das eine Plasmabehandlung eventuell einen gewinnbringenden Effekt haben könnte, wäre die Beeinflussung des physikalischen Alterungsprozesses von Titanoberflächen. So konnte man bis dato zeigen, dass Proteine und osseogene Zellen viel schneller an Titanoberflächen, die direkt aus der Produktion kommen, adhären, als an Titanimplantate, die eine längere Lagerungszeit aufweisen^{48,136}. Schon eine Lagerung von 4 Wochen hatte eine Verminderung des BIC von 90% auf 60% zur Folge¹³⁷. Durch diesen Prozess wird letztendlich die Osseointegration und somit langfristig der Erfolg der Implantation stark beeinflusst. Durch eine prä-operative Plasmabehandlung könnte dieser Nachteil aufgehoben werden. Diese Behandlung müsste unmittelbar vor dem Eingriff erfolgen, da die so erzeugte Steigerung der Oberflächenenergie nicht von langer Dauer ist^{138,139}.

Eine weitere Möglichkeit wäre die Aufbereitung von länger gelagerten Implantaten, die an der Oberfläche bereits eine etablierte Oxidschicht aufweisen. Dadurch könnte eine Re-aktivierung der Oberfläche wieder optimale Voraussetzungen für eine gute Osseointegration gewährleisten⁴⁸. Eine andere Möglichkeit wäre der Einsatz dieser Methoden als ergänzende Maßnahme für gesundheitlich vorbelastete Patienten. Man könnte sich vorstellen, dass bei Patienten mit Osteoporose, Diabetes oder Rauchen bei denen die normalerweise sehr guten Erfolgsquoten von Zahnimplantaten nicht erreicht werden, die Optimierung der Oberflächeneigenschaften einen förderlichen Einfluss auf den Langzeiterfolg der implantatgetragenen Restaurationen haben.

5.5 Schlussfolgerungen

Mit dieser Studie konnte gezeigt werden, dass sowohl eine UV-Bestrahlung, als auch eine Plasmabehandlung zu einer Aktivierung der Implantatoberfläche mit Steigerung der hydrophilen Eigenschaften führt. Beide Verfahren sind kostengünstig und insgesamt relativ leicht in der Durchführung. Die gewonnenen Daten zeigen, dass mit UV und Plasma behandelte Implantate keine biologisch negativen Eigenschaften zeigen. Dennoch konnte der erhoffte positive Effekt, dass eine gesteigerte Hydrophilie ein verbessertes Osseointegrationsverhalten bewirkt, wie es in anderen Studien belegt werden konnte, in unserer Studie nicht klar bestätigt werden^{47,93}. Es konnten jedoch leichte vorteilhafte Tendenzen für beide Verfahren beobachten werden, die eine weitere Forschung sinnvoll erscheinen lassen, um den positiven Einfluss dieser zwei Aktivierungsverfahren in klinischen Alltag zu evaluieren.

6 Referenzen

1. Schemitsch E, Kuzyk P: The basic science of peri-implant bone healing. *Indian Journal of Orthopaedics* 45:108-115, 2011.
2. Albrektsson T, Johansson C: Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J* 10 Suppl 2:S96-101, 2001.
3. Masuda T, Yliheikkilä PK, Felton DA, et al: Generalizations regarding the process and phenomenon of osseointegration. Part I. In vivo studies. *Int J Oral Maxillofac Implants* 13:17-29, 1998.
4. Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, et al: Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand* 52:155-170, 1981.
5. Schenk RK, Buser D: Osseointegration: a reality. *Periodontol* 2000 17:22-35, 1998.
6. Morris AH, Kyriakides TR: Matricellular proteins and biomaterials. *Matrix Biology*.
7. Allan B: Closer to nature: new biomaterials and tissue engineering in ophthalmology. *Br J Ophthalmol* 83:1235-1240, 1999.
8. Cooper LF, Harris CT, Bruder SP, et al: Incipient analysis of mesenchymal stem-cell-derived osteogenesis. *J Dent Res* 80:314-320, 2001.
9. Sykaras N, Iacopino AM, Marker VA, et al: Implant materials, designs, and surface topographies: their effect on osseointegration. A literature review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 15:675-690, 2000.
10. de Jonge LT, Leeuwenburgh SC, Wolke JG, et al: Organic-inorganic surface modifications for titanium implant surfaces. *Pharm Res* 25:2357-2369, 2008.
11. Davies JE: Mechanisms of endosseous integration. *Int J Prosthodont* 11:391-401, 1998.
12. Biehl V, Breme J: Metallic Biomaterials. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik* 32:137-141, 2001.
13. Davies JE: Bone bonding at natural and biomaterial surfaces. *Biomaterials* 28:5058-5067, 2007.
14. Ellingsen JE, Thomsen P, Lyngstadaas SP: Advances in dental implant materials and tissue regeneration. *Periodontol* 2000 41:136-156, 2006.
15. Salman S, Gunduz O, Yilmaz S, et al: Sintering effect on mechanical properties of composites of natural hydroxyapatites and titanium. *Ceramics International* 35:2965-2971, 2009.
16. Manicone PF, Rossi Iommetti P, Raffaelli L: An overview of zirconia ceramics: basic properties and clinical applications. *J Dent* 35:819-826, 2007.
17. Hisbergues M, Vendeville S, Vendeville P: Zirconia: Established facts and perspectives for a biomaterial in dental implantology. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 88:519-529, 2009.
18. Kohal RJ, Weng D, Bachle M, et al: Loaded custom-made zirconia and titanium implants show similar osseointegration: an animal experiment. *J Periodontol* 75:1262-1268, 2004.
19. Sennerby L, Dasmah A, Larsson B, et al: Bone tissue responses to surface-modified zirconia implants: A histomorphometric and removal torque study in the rabbit. *Clin Implant Dent Relat Res* 7 Suppl 1:S13-20, 2005.
20. Meijer GJ, Starmans FJ, de Putter C, et al: The influence of a flexible coating on the bone stress around dental implants. *J Oral Rehabil* 22:105-111, 1995.
21. Meijer GJ, Dalmeijer RA, de Putter C, et al: A comparative study of flexible (Polyactive) versus rigid (hydroxylapatite) perimucosal dental implants. II. Histological aspects. *J Oral Rehabil* 24:93-101, 1997.

22. Lemons JE: Dental implant biomaterials. *J Am Dent Assoc* 121:716-719, 1990.
23. Yang S, Leong KF, Du Z, et al: The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part II. Rapid prototyping techniques. *Tissue Eng* 8:1-11, 2002.
24. de Bruijn JD, van den Brink I, Mendes S, et al: Bone induction by implants coated with cultured osteogenic bone marrow cells. *Adv Dent Res* 13:74-81, 1999.
25. Erich Wintermantel S-WH: *Medizintechnik*. Springer:1460, 2008.
26. Shin SI, Yun JH, Kim SG, et al: Survival of 352 titanium implants placed in 181 patients: a 4-year multicenter field study. *J Periodontal Implant Sci* 44:8-12, 2014.
27. Pohler OEM: Unalloyed titanium for implants in bone surgery. *Injury* 31, Supplement 4:D7-D13, 2000.
28. Le Guehennec L, Soueidan A, Layrolle P, et al: Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater* 23:844-854, 2007.
29. Sul YT, Johansson CB, Jeong Y, et al: Oxidized implants and their influence on the bone response. *J Mater Sci Mater Med* 12:1025-1031, 2001.
30. Sul YT, Johansson CB, Jeong Y, et al: Resonance frequency and removal torque analysis of implants with turned and anodized surface oxides. *Clin Oral Implants Res* 13:252-259, 2002.
31. Wang XX, Yan W, Hayakawa S, et al: Apatite deposition on thermally and anodically oxidized titanium surfaces in a simulated body fluid. *Biomaterials* 24:4631-4637, 2003.
32. Feng B, Weng J, Yang BC, et al: Surface characterization of titanium and adsorption of bovine serum albumin. *Materials Characterization* 49:129-137, 2002.
33. Sun ZL, Wataha JC, Hanks CT: Effects of metal ions on osteoblast-like cell metabolism and differentiation. *J Biomed Mater Res* 34:29-37, 1997.
34. Javed F, Al-Hezaimi K, Almas K, et al: Is Titanium Sensitivity Associated with Allergic Reactions in Patients with Dental Implants? A Systematic Review. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2011.
35. Messer RL, Tackas G, Mickalonis J, et al: Corrosion of machined titanium dental implants under inflammatory conditions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 88:474-481, 2009.
36. Velasco-Ortega E, Jos A, Cameán AM, et al: In vitro evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of a commercial titanium alloy for dental implantology. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 702:17-23, 2010.
37. Klampfl TG, Isbary G, Shimizu T, et al: Cold atmospheric air plasma sterilization against spores and other microorganisms of clinical interest. *Appl Environ Microbiol* 78:5077-5082, 2012.
38. Rho JY, Ashman RB, Turner CH: Young's modulus of trabecular and cortical bone material: Ultrasonic and microtensile measurements. *Journal of Biomechanics* 26:111-119, 1993.
39. Ozaki T, Matsumoto H, Watanabe S, et al: Beta Ti Alloys with Low Young's Modulus. *MATERIALS TRANSACTIONS* 45:2776-2779, 2004.
40. Junker R, Dimakis A, Thoneick M, et al: Effects of implant surface coatings and composition on bone integration: a systematic review. *Clin Oral Implants Res* 20:185-206, 2009.
41. Dos Santos MV, Elias CN, Cavalcanti Lima JH: The effects of superficial roughness and design on the primary stability of dental implants. *Clin Implant Dent Relat Res* 13:215-223, 2011.

42. Duda SH, Poerner TC, Wiesinger B, et al: Drug-eluting Stents: Potential Applications for Peripheral Arterial Occlusive Disease. *Journal of Vascular and Interventional Radiology* 14:291-301, 2003.
43. Patent: Device for incorporation and release of biologically active agents, in, Vol EP19970201425.
44. Park JH, Schwartz Z, Olivares-Navarrete R, et al: Enhancement of surface wettability via the modification of microtextured titanium implant surfaces with polyelectrolytes. *Langmuir* 27:5976-5985, 2011.
45. Glauser R, Zembic A, Ruhstaller P, et al: Five-year results of implants with an oxidized surface placed predominantly in soft quality bone and subjected to immediate occlusal loading. *J Prosthet Dent* 97:S59-S68, 2007.
46. Hirakawa Y, Jimbo R, Shibata Y, et al: Accelerated bone formation on photo-induced hydrophilic titanium implants: an experimental study in the dog mandible. *Clin Oral Implants Res*:n/a-n/a, 2011.
47. Jimbo R, Ono D, Hirakawa Y, et al: Accelerated Photo-Induced Hydrophilicity Promotes Osseointegration: An Animal Study. *Clin Implant Dent Relat Res* 13:79-85, 2011.
48. Att W, Ogawa T: Biological aging of implant surfaces and their restoration with ultraviolet light treatment: a novel understanding of osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Implants* 27:753-761, 2012.
49. Gadelmawla ES, Koura MM, Maksoud TMA, et al: Roughness parameters. *Journal of Materials Processing Technology* 123:133-145, 2002.
50. Albrektsson T, Wennerberg A: Oral implant surfaces: Part 1--review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *Int J Prosthodont* 17:536-543, 2004.
51. Carlsson L, Rostlund T, Albrektsson B, et al: Removal torques for polished and rough titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 3:21-24, 1988.
52. Hansson S, Norton M: The relation between surface roughness and interfacial shear strength for bone-anchored implants. A mathematical model. *Journal of Biomechanics* 32:829-836, 1999.
53. Albrektsson T, Wennerberg A: Oral implant surfaces: Part 2--review focusing on clinical knowledge of different surfaces. *Int J Prosthodont* 17:544-564, 2004.
54. Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B, et al: A histomorphometric study of screw-shaped and removal torque titanium implants with three different surface topographies. *Clin Oral Implants Res* 6:24-30, 1995.
55. Marinucci L, Balloni S, Becchetti E, et al: Effect of titanium surface roughness on human osteoblast proliferation and gene expression in vitro. *Int J Oral Maxillofac Implants* 21:719-725, 2006.
56. Park JY, Gemmell CH, Davies JE: Platelet interactions with titanium: modulation of platelet activity by surface topography. *Biomaterials* 22:2671-2682, 2001.
57. Kopac T, Bozgeyik K: Effect of surface area enhancement on the adsorption of Bovine Serum Albumin onto titanium dioxide. *Colloids Surf B Biointerfaces* 76:265-271, 2010.
58. Nishimoto SK, Nishimoto M, Park SW, et al: The effect of titanium surface roughening on protein absorption, cell attachment, and cell spreading. *Int J Oral Maxillofac Implants* 23:675-680, 2008.
59. Javed F, Ahmed HB, Crespi R, et al: Role of primary stability for successful osseointegration of dental implants: Factors of influence and evaluation. *Interv Med Appl Sci* 5:162-167, 2013.

-
60. Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P, et al: Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dental Materials* 23:844-854, 2007.
 61. Velten D, Biehl V, Aubertin F, et al: Preparation of TiO₂ layers on cp-Ti and Ti6Al4V by thermal and anodic oxidation and by sol-gel coating techniques and their characterization. *J Biomed Mater Res* 59:18-28, 2002.
 62. Mustafa K, Wennerberg A, Wroblewski J, et al: Determining optimal surface roughness of TiO₂ blasted titanium implant material for attachment, proliferation and differentiation of cells derived from human mandibular alveolar bone. *Clin Oral Implants Res* 12:515-525, 2001.
 63. Gil FJ, Planell JA, Padros A: Fracture and fatigue behavior of shot-blasted titanium dental implants. *Implant Dent* 11:28-32, 2002.
 64. Miyakawa O, Watanabe K, Okawa S, et al: Surface contamination of titanium by abrading treatment. *Dent Mater J* 15:11-21, 1996.
 65. Citeau A, Guicheux J, Vinatier C, et al: In vitro biological effects of titanium rough surface obtained by calcium phosphate grid blasting. *Biomaterials* 26:157-165, 2005.
 66. Al Jabbari YS, Zinelis S, Eliades G: Effect of sandblasting conditions on alumina retention in representative dental alloys. *Dent Mater J* 31:249-255, 2012.
 67. Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, et al: Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (I). Success criteria and epidemiology. *Eur J Oral Sci* 106:527-551, 1998.
 68. Oshida Y, Munoz CA, Winkler MM, et al: Fractal dimension analysis of aluminum oxide particle for sandblasting dental use. *Biomed Mater Eng* 3:117-126, 1993.
 69. Hubbs AF, Minhas NS, Jones W, et al: Comparative Pulmonary Toxicity of 6 Abrasive Blasting Agents. *Toxicological Sciences* 61:135-143, 2001.
 70. Radziun E, Dudkiewicz Wilczyńska J, Książek I, et al: Assessment of the cytotoxicity of aluminium oxide nanoparticles on selected mammalian cells. *Toxicology in Vitro* 25:1694-1700, 2011.
 71. Rønold HJ, Ellingsen JE: Effect of micro-roughness produced by TiO₂ blasting—tensile testing of bone attachment by using coin-shaped implants. *Biomaterials* 23:4211-4219, 2002.
 72. Mustafa K, Silva Lopez B, Hulténby K, et al: Attachment and proliferation of human oral fibroblasts to titanium surfaces blasted with TiO₂ particles. A scanning electron microscopic and histomorphometric analysis. *Clin Oral Implants Res* 9:195-207, 1998.
 73. Le Guehennec L, Lopez-Heredia M-A, Enkel B, et al: Osteoblastic cell behaviour on different titanium implant surfaces. *Acta Biomater* 4:535-543, 2008.
 74. Kuroda S, Kawakita J, Watanabe M, et al: Warm spraying—a novel coating process based on high-velocity impact of solid particles. *Science and Technology of Advanced Materials* 9:033002, 2008.
 75. Song H-J, Kim M-K, Jung G-C, et al: The effects of spark anodizing treatment of pure titanium metals and titanium alloys on corrosion characteristics. *Surface and Coatings Technology* 201:8738-8745, 2007.
 76. Park Y-J, Shin K-H, Song H-J: Effects of anodizing conditions on bond strength of anodically oxidized film to titanium substrate. *Applied Surface Science* 253:6013-6018, 2007.
 77. Elias CN, Oshida Y, Lima JHC, et al: Relationship between surface properties (roughness, wettability and morphology) of titanium and dental implant removal torque. *J Mech Behav Biomed Mater* 1:234-242, 2008.

78. Sul YT, Johansson CB, Kang Y, et al: Bone reactions to oxidized titanium implants with electrochemical anion sulphuric acid and phosphoric acid incorporation. *Clin Implant Dent Relat Res* 4:78-87, 2002.
79. Wong M, Eulenberger J, Schenk R, et al: Effect of surface topology on the osseointegration of implant materials in trabecular bone. *J Biomed Mater Res* 29:1567-1575, 1995.
80. Massaro C, Rotolo P, De Riccardis F, et al: Comparative investigation of the surface properties of commercial titanium dental implants. Part I: chemical composition. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 13:535-548, 2002.
81. Novaes AB, Papalexiou V, Grisi MFM, et al: Influence of implant microstructure on the osseointegration of immediate implants placed in periodontally infected sites. *Clin Oral Implants Res* 15:34-43, 2004.
82. Cochran DL, Schenk RK, Lussi A, et al: Bone response to unloaded and loaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: A histometric study in the canine mandible. *J Biomed Mater Res* 40:1-11, 1998.
83. Aita H, Att W, Ueno T, et al: Ultraviolet light-mediated photofunctionalization of titanium to promote human mesenchymal stem cell migration, attachment, proliferation and differentiation. *Acta Biomater* 5:3247-3257, 2009.
84. Han Y, Chen D, Sun J, et al: UV-enhanced bioactivity and cell response of micro-arc oxidized titania coatings. *Acta Biomater* 4:1518-1529, 2008.
85. Zhao G, Schwartz Z, Wieland M, et al: High surface energy enhances cell response to titanium substrate microstructure. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 74A:49-58, 2005.
86. Schwarz F, Wieland M, Schwartz Z, et al: Potential of chemically modified hydrophilic surface characteristics to support tissue integration of titanium dental implants. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 88B:544-557, 2009.
87. Mendonça G, Mendonça DBS, Aragão FJL, et al: Advancing dental implant surface technology – From micron- to nanotopography. *Biomaterials* 29:3822-3835, 2008.
88. Wennerberg A: The importance of surface roughness for implant incorporation. *International Journal of Machine Tools and Manufacture* 38:657-662, 1998.
89. Bathommarco RV, Solorzano G, Elias CN, et al: Atomic force microscopy analysis of different surface treatments of Ti dental implant surfaces. *Applied Surface Science* 233:29-34, 2004.
90. Hori N, Iwasa F, Tsukimura N, et al: Effects of UV photofunctionalization on the nanotopography enhanced initial bioactivity of titanium. *Acta Biomater* 7:3679-3691, 2011.
91. Duske K, Koban I, Kindel E, et al: Atmospheric plasma enhances wettability and cell spreading on dental implant metals. *J Clin Periodontol* 39:400-407, 2012.
92. Cochran DL, Buser D, ten Bruggenkate CM, et al: The use of reduced healing times on ITI implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface: early results from clinical trials on ITI SLA implants. *Clin Oral Implants Res* 13:144-153, 2002.
93. Teixeira HS, Marin C, Witek L, et al: Assessment of a chair-side argon-based non-thermal plasma treatment on the surface characteristics and integration of dental implants with textured surfaces. *J Mech Behav Biomed Mater* 9:45-49, 2012.

94. Riley DJ, Bavastrello V, Covani U, et al: An in-vitro study of the sterilization of titanium dental implants using low intensity UV-radiation. *Dental Materials* 21:756-760, 2005.
95. Baier RE, Meyer AE: Implant surface preparation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 3:9-20, 1988.
96. Rong W, Kazuhito H, Akira F, et al: Light-induced amphiphilic surfaces. *Nature* 388:431-432, 1997.
97. Hori N, Ueno T, Minamikawa H, et al: Electrostatic control of protein adsorption on UV-photofunctionalized titanium. *Acta Biomater* 6:4175-4180, 2010.
98. Sawase T, Jimbo R, Wennerberg A, et al: A novel characteristic of porous titanium oxide implants. *Clin Oral Implants Res* 18:680-685, 2007.
99. Ueno T, Yamada M, Suzuki T, et al: Enhancement of bone–titanium integration profile with UV-photofunctionalized titanium in a gap healing model. *Biomaterials* 31:1546-1557, 2010.
100. Ogawa T: Ultraviolet photofunctionalization of titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 29:e95-102, 2014.
101. Park KH, Koak JY, Kim SK, et al: The effect of ultraviolet-C irradiation via a bactericidal ultraviolet sterilizer on an anodized titanium implant: a study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 28:57-66, 2013.
102. Aronsson BO, Lausmaa J, Kasemo B: Glow discharge plasma treatment for surface cleaning and modification of metallic biomaterials. *J Biomed Mater Res* 35:49-73, 1997.
103. Ermolaeva SA, Varfolomeev AF, Chernukha MY, et al: Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds. *J Med Microbiol* 60:75-83, 2011.
104. Hong YF, Kang JG, Lee HY, et al: Sterilization effect of atmospheric plasma on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* endospores. *Letters in Applied Microbiology* 48:33-37, 2009.
105. Isbary G, Morfill G, Schmidt HU, et al: A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients. *British Journal of Dermatology* 163:78-82, 2010.
106. Maisch T, Shimizu T, Isbary G, et al: Contact-free inactivation of *Candida albicans* biofilms by cold atmospheric air plasma. *Appl Environ Microbiol* 78:4242-4247, 2012.
107. Gadri RB, Roth JR, Montie TC, et al: Sterilization and plasma processing of room temperature surfaces with a one atmosphere uniform glow discharge plasma (OAUGDP). *Surface and Coatings Technology* 131:528-541, 2000.
108. Shibata Y, Miyazaki T: Anode glow discharge plasma treatment enhances calcium phosphate adsorption onto titanium plates. *J Dent Res* 81:841-844, 2002.
109. Pearce AI, Richards RG, Milz S, et al: Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater* 13:1-10, 2007.
110. Martini L, Fini M, Giavaresi G, et al: Sheep model in orthopedic research: a literature review. *Comp Med* 51:292-299, 2001.
111. Liebschner MAK: Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. *Biomaterials* 25:1697-1714, 2004.
112. Ravaglioli A, Krajewski A, Celotti GC, et al: Mineral evolution of bone. *Biomaterials* 17:617-622, 1996.
113. Nafei A, Kabel J, Odgaard A, et al: Properties of growing trabecular ovine bone. Part II: architectural and mechanical properties. *J Bone Joint Surg Br* 82:921-927, 2000.

114. Langhoff JD, Voelter K, Scharnweber D, et al: Comparison of chemically and pharmaceutically modified titanium and zirconia implant surfaces in dentistry: a study in sheep. *Int J Oral Maxillofac Surg* 37:1125-1132, 2008.
115. Stübinger S, Biermeier K, Bachi B, et al: Comparison of Er:YAG laser, piezoelectric, and drill osteotomy for dental implant site preparation: a biomechanical and histological analysis in sheep. *Lasers Surg Med* 42:652-661, 2010.
116. Abrahamsson I, Linder E, Lang NP: Implant stability in relation to osseointegration: an experimental study in the Labrador dog. *Clin Oral Implants Res* 20:313-318, 2009.
117. Stübinger S, Mosch I, Robotti P, et al: Histological and biomechanical analysis of porous additive manufactured implants made by direct metal laser sintering: A pilot study in sheep. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 101:1154-1163, 2013.
118. Plecko M, Sievert C, Andermatt D, et al: Osseointegration and biocompatibility of different metal implants--a comparative experimental investigation in sheep. *BMC Musculoskelet Disord* 13:32, 2012.
119. Huang Y-H, Xiropaidis AV, Sorensen RG, et al: Bone formation at titanium porous oxide (TiUnite™) oral implants in type IV bone. *Clin Oral Implants Res* 16:105-111, 2005.
120. Kalfas IH: Principles of bone healing. *Neurosurg Focus* 10:E1, 2001.
121. Eitel F, Klapp F, Jacobson W, et al: Bone regeneration in animals and in man. A contribution to understanding the relative value of animal experiments to human pathophysiology. *Arch Orthop Trauma Surg* 99:59-64, 1981.
122. Simunek A, Kopecka D, Brazda T, et al: Development of implant stability during early healing of immediately loaded implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 27:619-627, 2012.
123. Marco F, Milena F, Gianluca G, et al: Peri-implant osteogenesis in health and osteoporosis. *Micron* 36:630-644, 2005.
124. Vanden Bogaerde L, Pedretti G, Dellacasa P, et al: Early function of splinted implants in maxillas and posterior mandibles, using Branemark System Tiunite implants: an 18-month prospective clinical multicenter study. *Clin Implant Dent Relat Res* 6:121-129, 2004.
125. Brechter M, Nilson H, Lundgren S: Oxidized titanium implants in reconstructive jaw surgery. *Clin Implant Dent Relat Res* 7 Suppl 1:S83-87, 2005.
126. Altankov G, Groth T: Fibronectin matrix formation by human fibroblasts on surfaces varying in wettability. *J Biomater Sci Polym Ed* 8:299-310, 1996.
127. Wen S, Van D: Grain boundary in some nano-materials. *Ceramics International* 21:109-112, 1995.
128. Webster TJ, Ejiofor JU: Increased osteoblast adhesion on nanophase metals: Ti, Ti6Al4V, and CoCrMo. *Biomaterials* 25:4731-4739, 2004.
129. Jungner M, Lundqvist P, Lundgren S: Oxidized titanium implants (Nobel Biocare® TiUnite™) compared with turned titanium implants (Nobel Biocare® mark III™) with respect to implant failure in a group of consecutive patients treated with early functional loading and two-stage protocol. *Clin Oral Implants Res* 16:308-312, 2005.
130. Messer RLW, Seta F, Mickalonis J, et al: Corrosion of phosphate-enriched titanium oxide surface dental implants (TiUnite®) under in vitro inflammatory and hyperglycemic conditions. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 92B:525-534, 2010.

131. Manresa C, Bosch M, Echeverria JJ: The comparison between implant stability quotient and bone-implant contact revisited: an experiment in Beagle dog. *Clin Oral Implants Res*, 2013.
132. Sim CP, Lang NP: Factors influencing resonance frequency analysis assessed by Osstell mentor during implant tissue integration: I. Instrument positioning, bone structure, implant length. *Clin Oral Implants Res* 21:598-604, 2010.
133. Kammerer PW, Palarie V, Schiegnitz E, et al: Vertical osteoconductivity and early bone formation of titanium-zirconium and titanium implants in a subperiosteal rabbit animal model. *Clin Oral Implants Res*, 2013.
134. Takeuchi K, Saruwatari L, Nakamura HK, et al: Enhanced intrinsic biomechanical properties of osteoblastic mineralized tissue on roughened titanium surface. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 72A:296-305, 2005.
135. Park KH, Koak JY, Kim SK, et al: Wettability and cellular response of UV light irradiated anodized titanium surface. *J Adv Prosthodont* 3:63-68, 2011.
136. Hori N, Att W, Ueno T, et al: Age-dependent degradation of the protein adsorption capacity of titanium. *J Dent Res* 88:663-667, 2009.
137. Lee JH, Ogawa T: The biological aging of titanium implants. *Implant Dent* 21:415-421, 2012.
138. Rupp F, Axmann D, Ziegler C, et al: Adsorption/desorption phenomena on pure and Teflon® AF-coated titania surfaces studied by dynamic contact angle analysis. *J Biomed Mater Res* 62:567-578, 2002.
139. Scharnweber D, Schlottig F, Oswald S, et al: How is wettability of titanium surfaces influenced by their preparation and storage conditions? *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 21:525-532, 2010.

7 Abkürzungsverzeichnis

UV	Ultraviolett-Licht
im	intramuskulär
iv	intravenös
p	standard Abweichung
NTP	nicht thermisches Plasma
KG	Körpergewicht
s.c	subkutan
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
TGF- β	Transforming growth factor beta
PDGF	Platelet-derived growth factor
ECGF	Fibroblast growth factor
NAP	Nck-Associated Protein
2W	2 Wochen Gruppe
4W	4 Wochen Gruppe
8W	8 Wochen Gruppe
ANOVA	Varianzanalyse
kg	kilogram

8 Anhang

8.1 Tabellen

8.1.1 Hydrophilie

Tabelle 1: 2 Wochen Gruppe

Position	Oberfläche	Hydrophilie
11.36 R7	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 2+
11.34 L5	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.34 R5	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.35 L6	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 2+
11.35 R6	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.36 L7	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.37 L8	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.37 R8	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.38 L3	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.38 R3	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.39 L4	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.39 R4	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.29 L6	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.29 R6	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.30 L7	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.30 R7	TiUnite UV	Hydrophilic 2+
11.31 L8	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.31 R8	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.32 L3	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.32 R3	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.33 L4	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.33 R4	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.28 L5	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.28 R5	TiUnite UV	Hydrophilic 3+

Tabelle 2: 4 Wochen Gruppe

Position	Oberfläche	Hydrophilie
11.24 R7	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.22 L5	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 1-2
11.22 R5	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.23 L6	PlasmaTiUnite	Hydrophobic
11.23 R6	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.24 L7	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.25 L8	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.25 R8	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.26 L3	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.26 R3	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.27 L4	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.27 R4	PlasmaTiUnite	Hydrophilic 3+
11.17 L6	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.17 R6	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.18 L7	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.18 R7	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.19 L8	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.19 R8	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.20 L3	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.20 R3	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.21 L4	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.21 R4	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.16 L5	TiUnite UV	Hydrophilic 2+
11.16 R5	TiUnite UV	Hydrophilic 3+

Tabelle 3: 8 Wochen Gruppe

Schaf	Oberfläche	Hydrophilie
11.12 R7	PlasmaTiUnite	Hydrophobic
11.10 L5	PlasmaTiUnite	Hydrophobic
11.10 R5	PlasmaTiUnite	Hydrophobic
11.11 L6	PlasmaTiUnite	Hydrophobic
11.11 R6	PlasmaTiUnite	Hydrophobic
11.12 L7	PlasmaTiUnite	Hydrophobic
11.13 L8	PlasmaTiUnite	Hydrophobic
11.13 R8	PlasmaTiUnite	Hydrophobic
11.14 L3	PlasmaTiUnite	Hydrophobic
11.14 R3	PlasmaTiUnite	Hydrophobic
11.15 L4	PlasmaTiUnite	Hydrophobic
11.15 R4	PlasmaTiUnite	Hydrophobic
11.06 L7	TiUnite UV	Hydrophilic 1+
11.06 R7	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.07 L8	TiUnite UV	Hydrophilic 1+
11.07 R8	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.08 L3	TiUnite UV	Hydrophilic 1+
11.08 R3	TiUnite UV	Hydrophobic
11.09 L4	TiUnite UV	Hydrophilic 1+
11.09 R4	TiUnite UV	Hydrophilic 3+
11.05 L6	TiUnite UV	Hydrophilic 1+
11.05 R6	TiUnite UV	Hydrophilic 1+
11.04 L5	TiUnite UV	Hydrophilic 1+
11.04 R5	TiUnite UV	Hydrophilic 3+

8.1.2 Bohrung

Tabelle 4: Bohrung

Symb.	Implantat Nummer	Oberfläche	Symb.	Implantat Nummer	Oberfläche
I	11.10 R4	TiUnite	I	11.26 R8	TiUnite
II	11.12 R6	TiUnite	I	11.09 R7	TiUnite
I	11.14 R8	TiUnite	II	11.11 R6	Plasma TiUnite
II	11.34 R4	TiUnite	I	11.13 R8	Plasma TiUnite
I	11.36 R6	TiUnite	I	11.15 R4	Plasma TiUnite
I	11.37 R7	TiUnite	I	11.37 R8	Plasma TiUnite
I	11.38 R8	TiUnite	II	11.17 R6	TiUnite UV
II	11.16 R8	TiUnite	I	11.19 R8	TiUnite UV
II	11.18 R4	TiUnite	II	11.31 R8	TiUnite UV
I	11.28 R8	TiUnite	I	11.06 R7	TiUnite UV
I	11.32 R6	TiUnite	II	11.09 R4	TiUnite UV
I	11.33 R7	TiUnite			

I – Implantat steckt in die gegenüberliegende Knochen-Cortex.

II – Implantat penetriert die gegenüberliegende Knochen-Cortex.

8.1.3 Histologie

2W - 2 Wochen Gruppe Ti-Unite-Implantate

4W - 4 Wochen Gruppe Ti-Unite-Implantate

8W - 8 Wochen Gruppe Ti-Unite-Implantate

Tabelle 5: BIC

Oberfläche	Mittelwert	St. Abweichung	N
Ti Unite 2W	58.93	9.77	12
Ti Unite 4W	70.55	15.79	12
Ti Unite 8W	62.78	7.21	12
Ti Unite UV 2W	64.06	12.336	6
Ti Unite UV 4W	69.45	15.12	6
Ti Unite UV 8W	59.25	7.07	6
Plasma Ti Unite 2W	55.90	6.59	6
Plasma Ti Unite 4W	71.42	9.15	6
Plasma Ti Unite 8W	61.07	8.73	6
Gesamt	63.81	11.54	72

Tabelle 6: Neuer Knochen im peri-implantären Raum

Oberfläche	Mittelwert	St. Abweichung	N
Ti Unite 2W	33.77	5.5	12
Ti Unite 4W	42.87	14.2	12
Ti Unite 8W	48.89	11.72	12
Ti Unite UV 2W	29.97	2.83	6
Ti Unite UV 4W	40.3	9.53	6
Ti Unite UV 8W	49.97	13.13	6
Plasma Ti Unite 2W	34.21	10.13	6
Plasma Ti Unite 4W	42.64	11.08	6
Plasma Ti Unite 8W	48.37	14.17	6
Gesamt	41.38	12.33	72

Tabelle 7: Neuer Knochen im umliegenden Gewebe

Oberfläche	Mittelwert	St. Abweichung	N
Ti Unite 2W	15.40	4.81	12
Ti Unite 4W	27.13	10.61	12
Ti Unite 8W	38.57	9.72	12
Ti Unite UV 2W	16.00	4.26	6
Ti Unite UV 4W	22.51	4.69	6
Ti Unite UV 8W	42.54	11.39	6
Plasma Ti Unite 2W	17.76	4.89	6
Plasma Ti Unite 4W	26.86	9.94	6
Plasma Ti Unite 8W	39.60	11.03	6
Gesamt	27.29	12.77	72

Tabelle 8: Alter Knochen im peri-implantären Raum

Oberfläche	Mittelwert	St. Abweichung	N
Ti Unite 2W	8.31	4.14	12
Ti Unite 4W	8.83	5.29	12
Ti Unite 8W	2.75	2.31	12
Ti Unite UV 2W	10.32	5.57	6
Ti Unite UV 4W	8.67	3.20	6
Ti Unite UV 8W	2.43	2.48	6
Plasma Ti Unite 2W	9.52	2.99	6
Plasma Ti Unite 4W	8.67	5.19	6
Plasma Ti Unite 8W	1.68	3.00	6
Gesamt	6.76	4.93	72

Tabelle 9: Alter Knochen im umliegenden Gewebe

Oberfläche	Mittelwert	St. Abweichung	N
Ti Unite 2W	30.12	9.03	12
Ti Unite 4W	22.73	6.19	12
Ti Unite 8W	19.34	6.09	12
Ti Unite UV 2W	26.08	6.38	6
Ti Unite UV 4W	23.62	7.76	6
Ti Unite UV 8W	19.94	6.87	6
Plasma Ti Unite 2W	30.05	5.85	6
Plasma Ti Unite 4W	21.71	7.06	6
Plasma Ti Unite 8W	16.21	6.12	6
Gesamt	23.42	8.02	72

Tabelle 10: Weichteilanteil im peri-implantären Raum

Oberfläche	Mittelwert	St. Abweichung	N
Ti Unite 2W	57.91	7.38	12
Ti Unite 4W	48.29	13.86	12
Ti Unite 8W	48.35	13.00	12
Ti Unite UV 2W	59.70	6.38	6
Ti Unite UV 4W	51.01	10.77	6
Ti Unite UV 8W	47.58	12.27	6
Plasma Ti Unite 2W	56.26	12.51	6
Plasma Ti Unite 4W	48.67	13.63	6
Plasma Ti Unite 8W	49.94	14.99	6
Gesamt	51.86	12.08	72

Tabelle 11: Weichteilanteil im umliegenden Gewebe

Oberfläche	Mittelwert	St. Abweichung	N
Ti Unite 2W	54.47	11.31	12
Ti Unite 4W	50.13	13.34	12
Ti Unite 8W	42.09	13.63	12
Ti Unite UV 2W	57.92	6.25	6
Ti Unite UV 4W	53.86	10.44	6
Ti Unite UV 8W	38.51	12.08	6
Plasma Ti Unite 2W	52.18	6.63	6
Plasma Ti Unite 4W	51.43	12.23	6
Plasma Ti Unite 8W	44.18	14.58	6
Gesamt	49.30	12.65	72

8.1.4 Biomechanische Auswertung

Tabelle 12: Eindrehdrehmoment Anfang (Nmm)

Oberfläche	Mittelwert	St. Abweichung	N
Ti Unite 2W	10.83	1.94	12
Ti Unite 4W	10.83	1.94	12
Ti Unite 8W	12.5	2.26	12
Ti Unite UV 2W	10.00	0.00	6
Ti Unite UV 4W	10.83	2.04	6
Ti Unite UV 8W	12.5	2.73	6
Plasma Ti Unite 2W	11.67	2.58	6
Plasma Ti Unite 4W	10.83	2.04	6
Plasma Ti Unite 8W	10.00	0.00	6
Gesamt	10.97	1.99	72

Tabelle 13: Eindrehdrehmoment Ende (Nmm)

Oberfläche	Mittelwert	St. Abweichung	N
Ti Unite 2W	26.67	9.84	12
Ti Unite 4W	27.08	7.52	12
Ti Unite 8W	21.67	7.78	12
Ti Unite UV 2W	19.17	6.65	6
Ti Unite UV 4W	21.67	10.80	6
Ti Unite UV 8W	18.33	6.05	6
Plasma Ti Unite 2W	25.00	11.40	6
Plasma Ti Unite 4W	23.33	11.69	6
Plasma Ti Unite 8W	20.83	9.17	6
Gesamt	23.26	9.0	72

Tabelle 14: Resonanzfrequenzmessung Implantation

Oberfläche	Mittelwert	St. Abweichung	N
Ti Unite 2W	61.50	6.52	12
Ti Unite 4W	64.96	7.05	12
Ti Unite 8W	58.7	7.24	12
Ti Unite UV 2W	58.50	6.22	6
Ti Unite UV 4W	66.25	9.84	6
Ti Unite UV 8W	56.91	8.13	6
Plasma Ti Unite 2W	60.92	7.63	6
Plasma Ti Unite 4W	64.42	9.03	6
Plasma Ti Unite 8W	64.33	2.71	6
Gesamt	61.81	7.49	72

Tabelle 15: Resonanzfrequenzmessung Schlachtung

Oberfläche	Mittelwert	St. Abweichung	N
Ti Unite 2W	82.17	1.99	12
Ti Unite 4W	81.50	2.26	12
Ti Unite 8W	82.33	2.28	12
Ti Unite UV 2W	80.67	1.86	6
Ti Unite UV 4W	80.17	1.25	6
Ti Unite UV 8W	82.17	2.40	6
Plasma Ti Unite 2W	82.67	1.77	6
Plasma Ti Unite 4W	83.17	2.31	6
Plasma Ti Unite 8W	81.17	3.41	6
Gesamt	81.83	2.25	72

Tabelle 16: Torque out (Nmm)

Oberfläche	Mittelwert	St. Abweichung	N
Ti Unite 2W	674.95	157.35	12
Ti Unite 4W	1267.02	337.02	12
Ti Unite 8W	1166.85	351.20	12
Ti Unite UV 2W	716.79	159.72	6
Ti Unite UV 4W	1249.33	305.22	6
Ti Unite UV 8W	1269.6	295.34	6
Plasma Ti Unite 2W	647.89	190.41	6
Plasma Ti Unite 4W	1483.93	334.89	6
Plasma Ti Unite 8W	1228.33	170.33	6
Gesamt	1067.71	387.691	72

8.2 Ausdrehkraftkurven

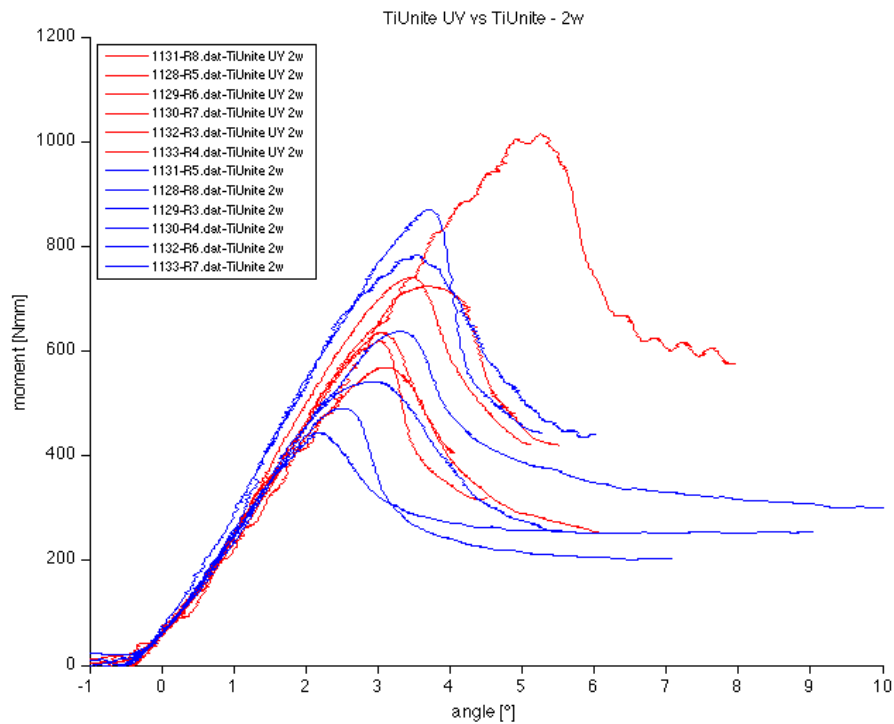


Abbildung 1: TiUnite UV vs. TiUnite – 2 Wochen

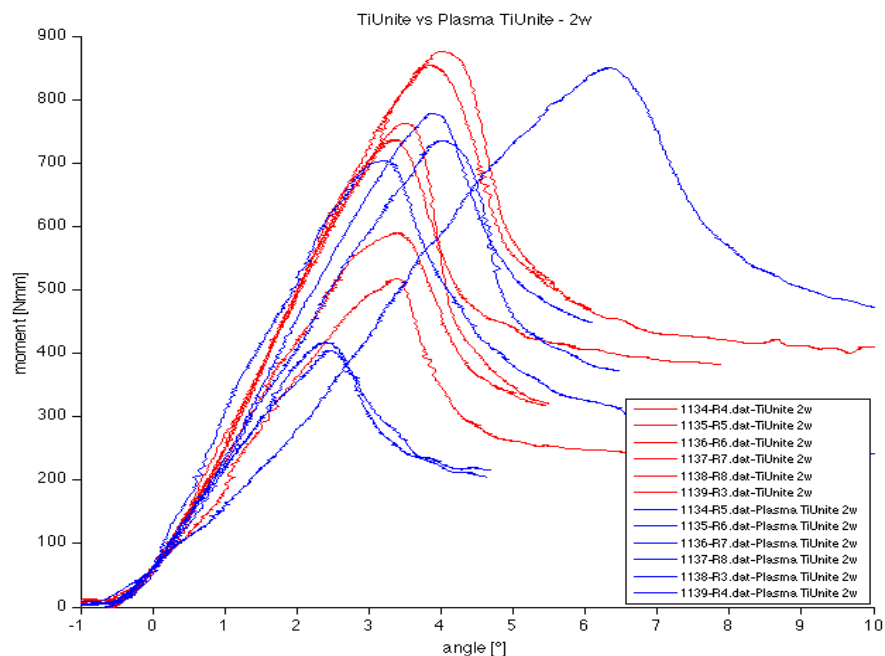


Abbildung 2: TiUnite vs. Plasma TiUnite – 2 Wochen

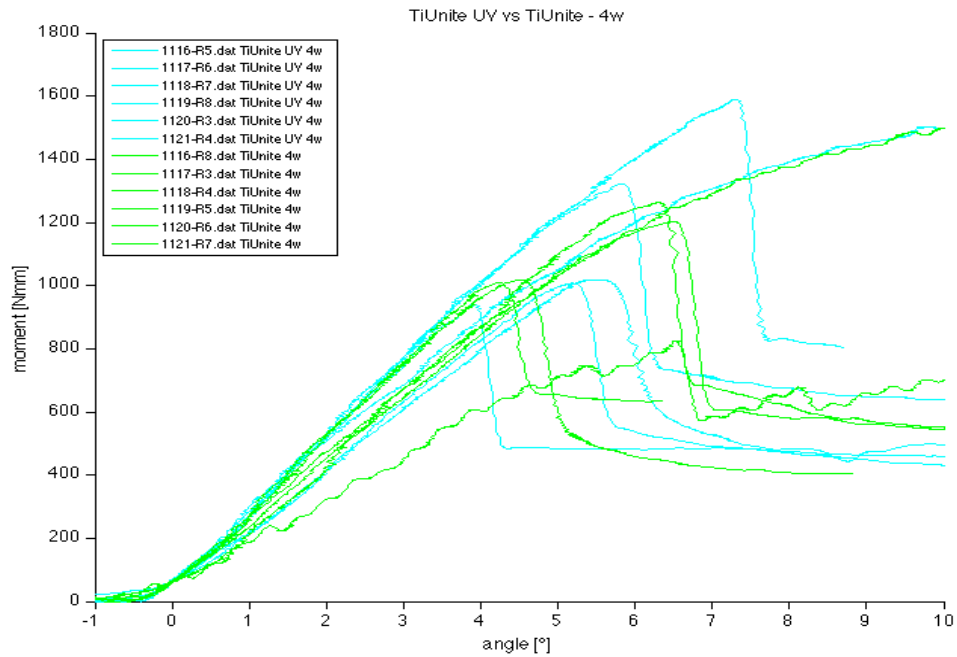


Abbildung 3: TiUnite UV vs. TiUnite - 4 Wochen

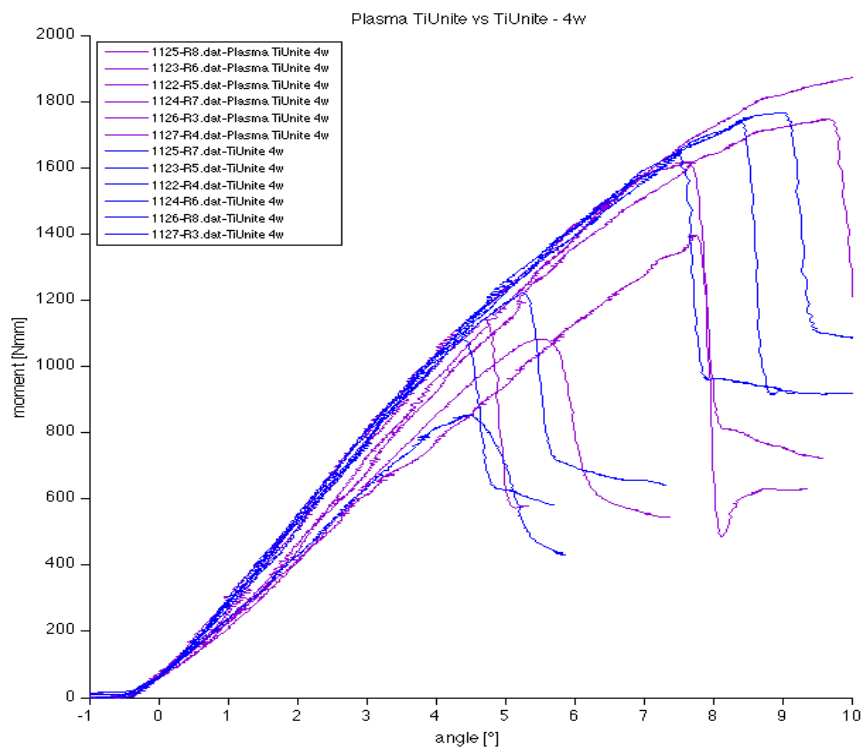


Abbildung 4 : Plasma TiUnite vs. TiUnite - 4Wochen

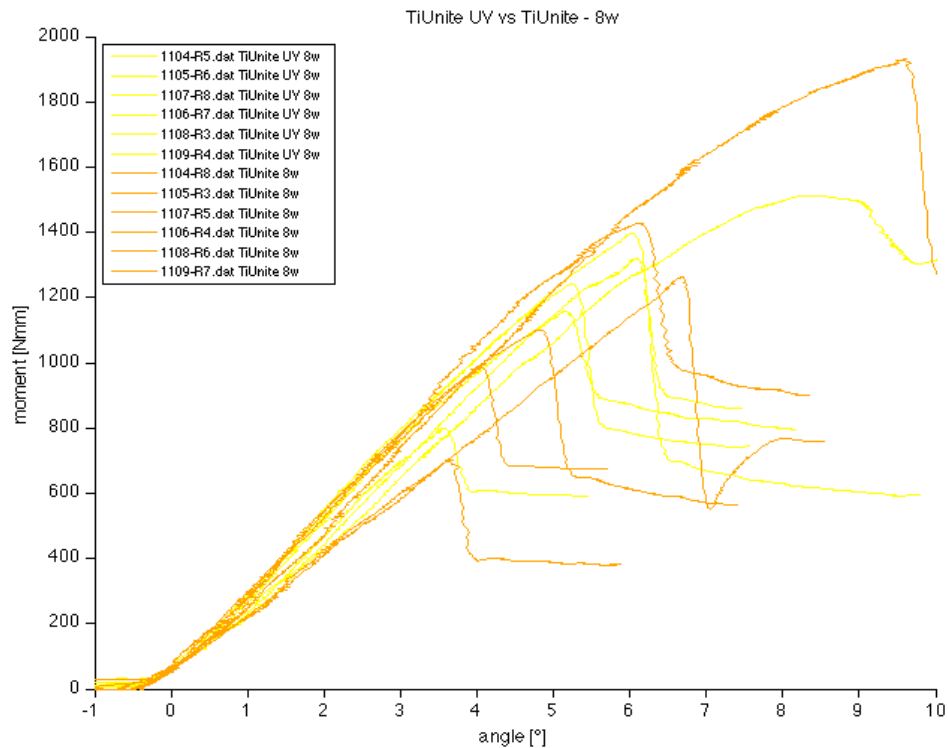


Abbildung 5: TiUnite UV vs. TiUnite - 8 Wochen

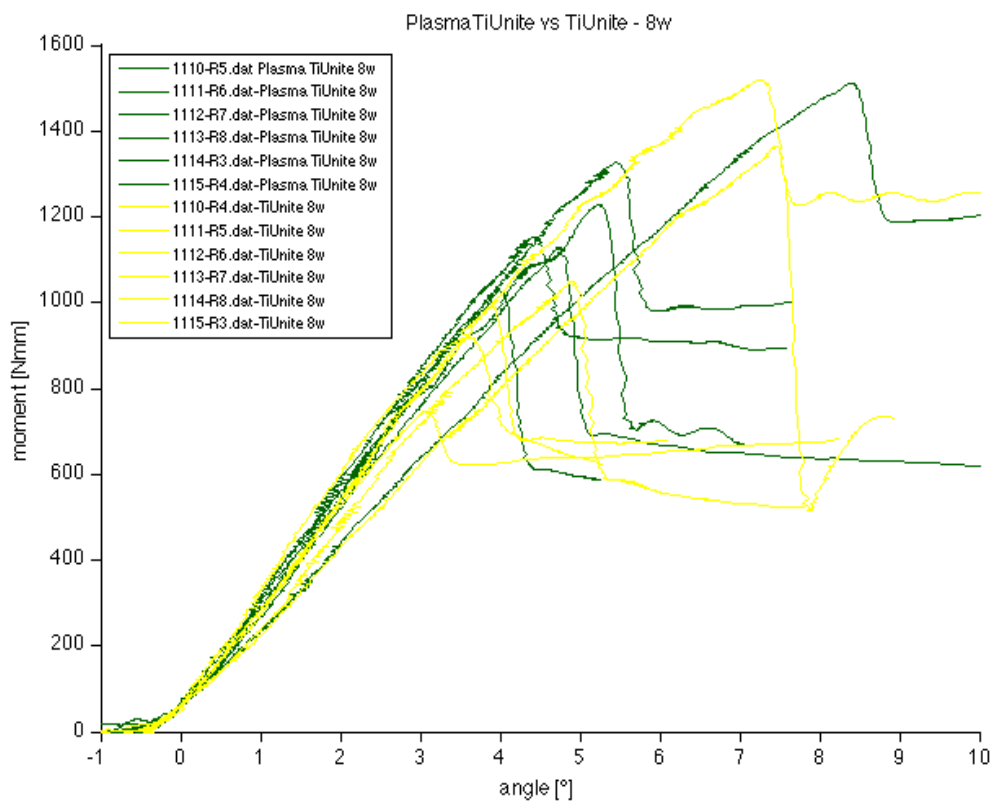


Abbildung 6: Plasma TiUnite vs. Ti Unite - 8 Wochen

8.3 Boxplots

8.3.1 Histologie

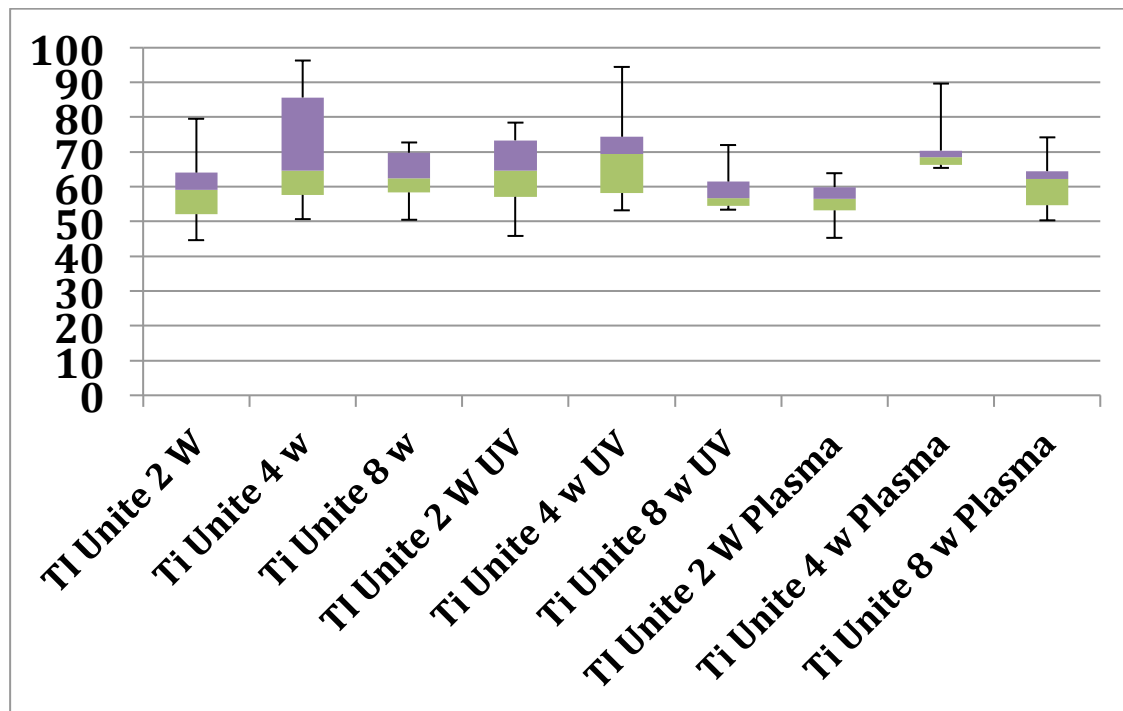


Abbildung 7: Bone to implant contact (BIC – in %)

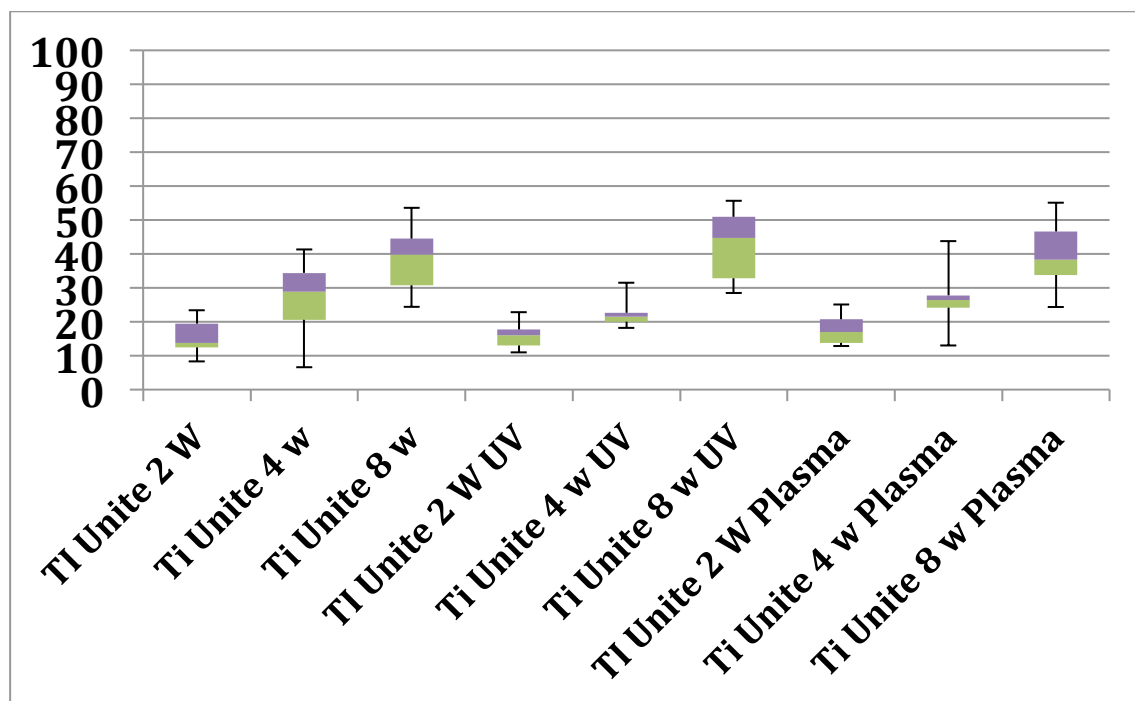


Abbildung 8: Neuer Knochen in umliegenden Gewebe - Durchschnitts Wert (in %) aus der Messung beider Implantatseiten

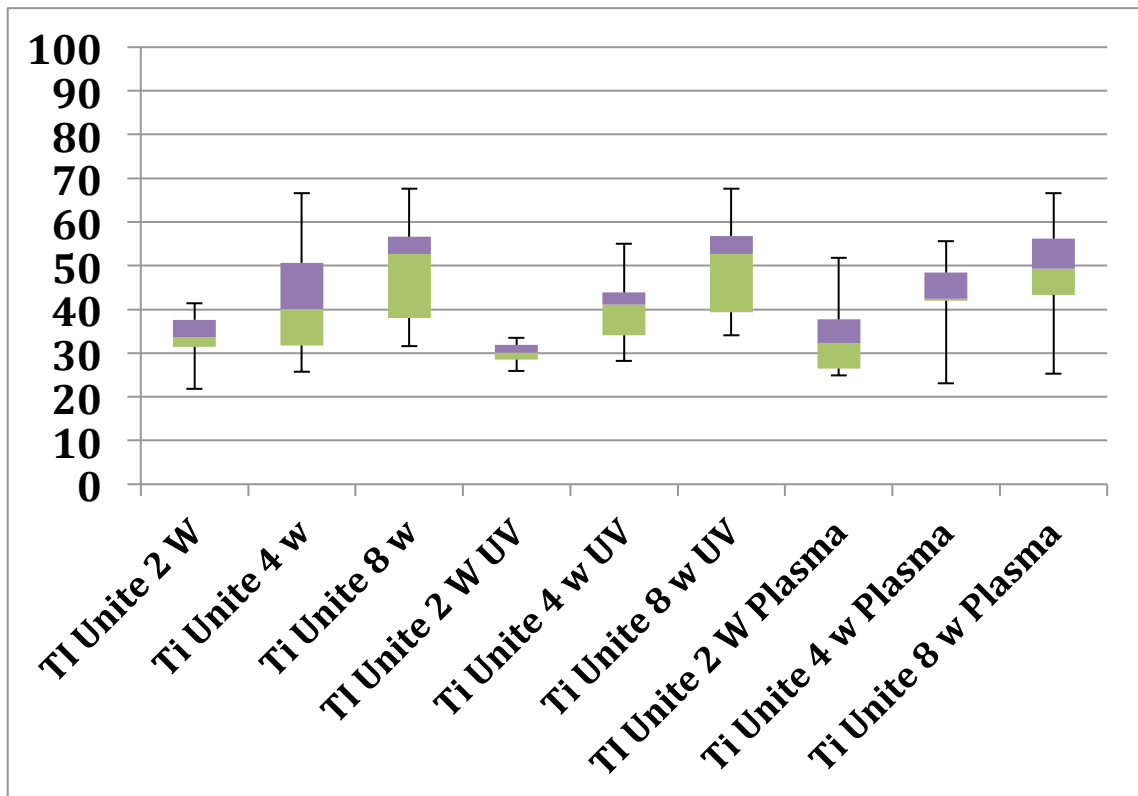


Abbildung 9: Neuer Knochen im Implantatinterface - Durchschnitts Wert (in %) aus der Messung beider Implantatseiten

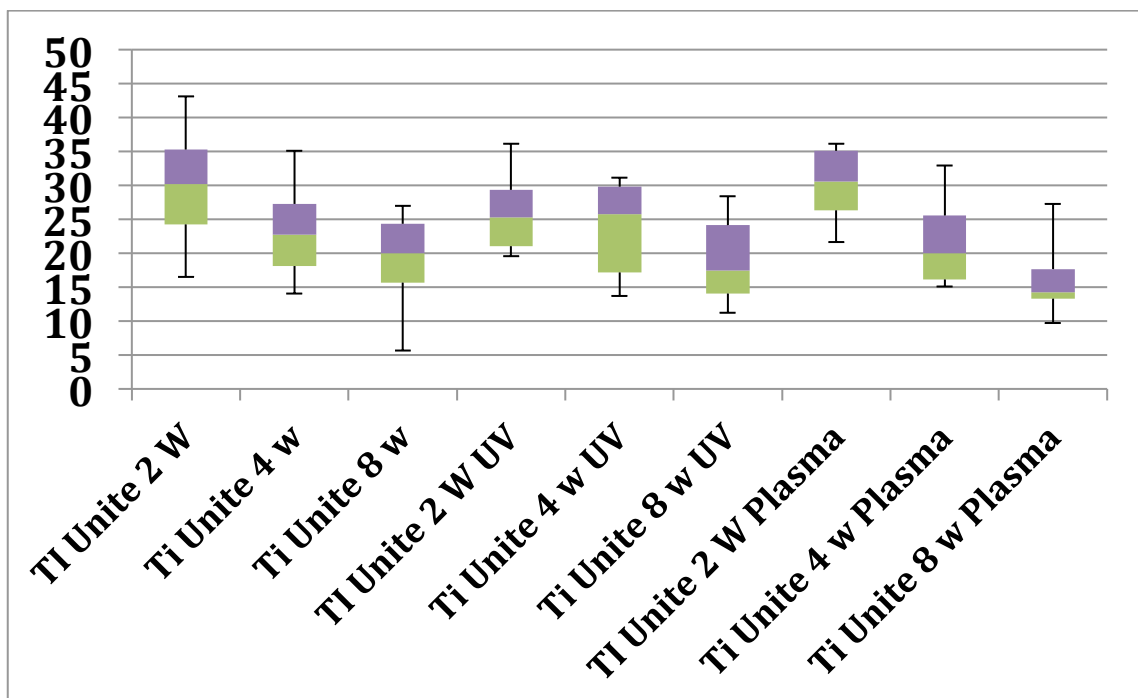


Abbildung 10: Alter Knochen im Umliegenden Gewebe - Durchschnitts Wert (in %) aus der Messung beider Implantatseiten

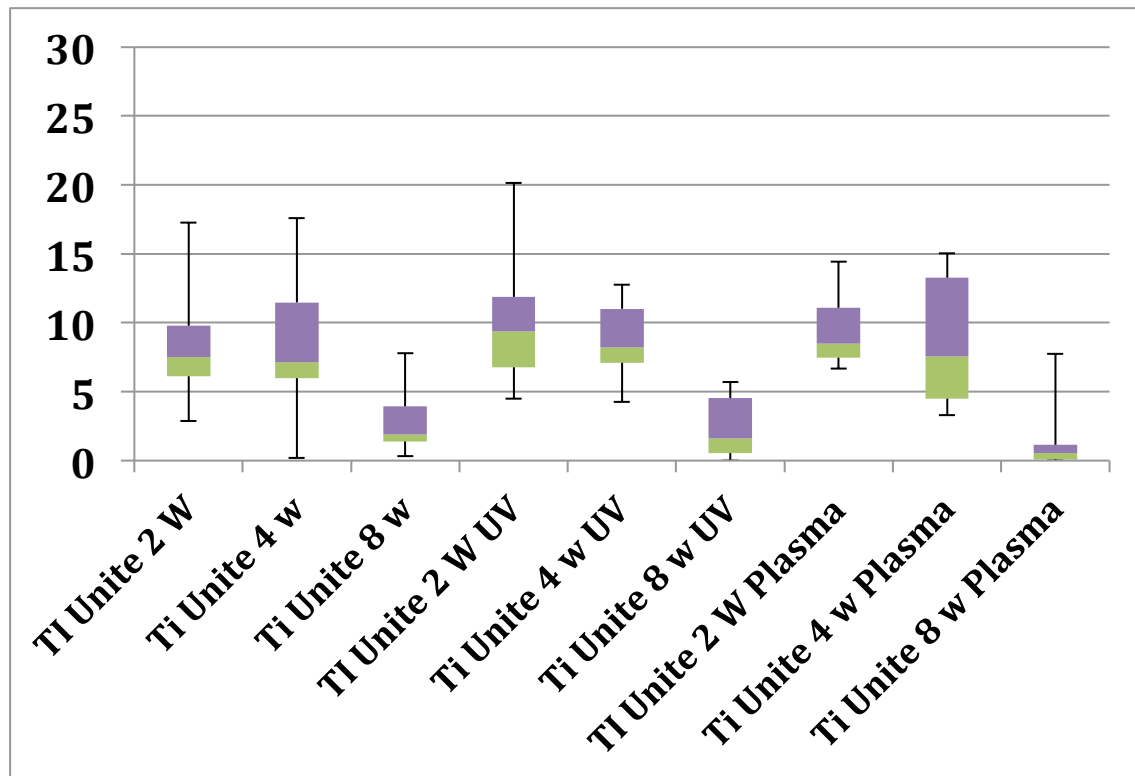


Abbildung 11: Alter Knochen im Implantat Interface - Durchschnitts Wert (in %) aus der Messung beider Implantatseiten

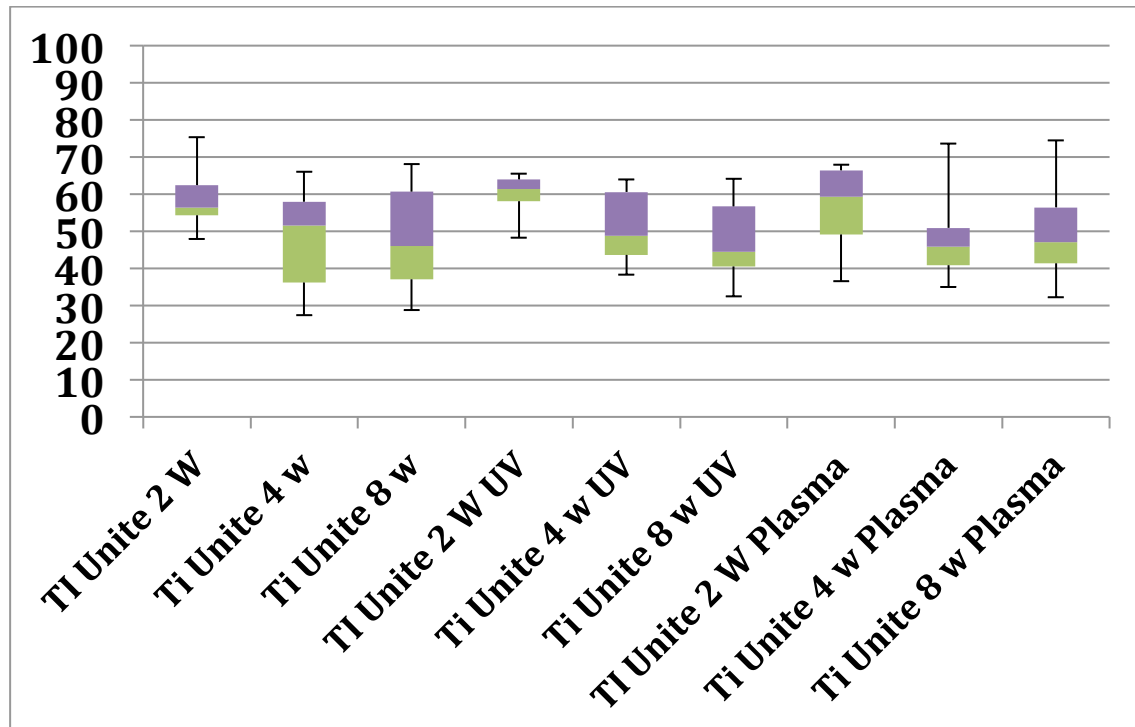


Abbildung 12: Weichteilgewebe am Implantatinterface - Durchschnitts Wert (in %) aus der Messung beider Implantatseiten

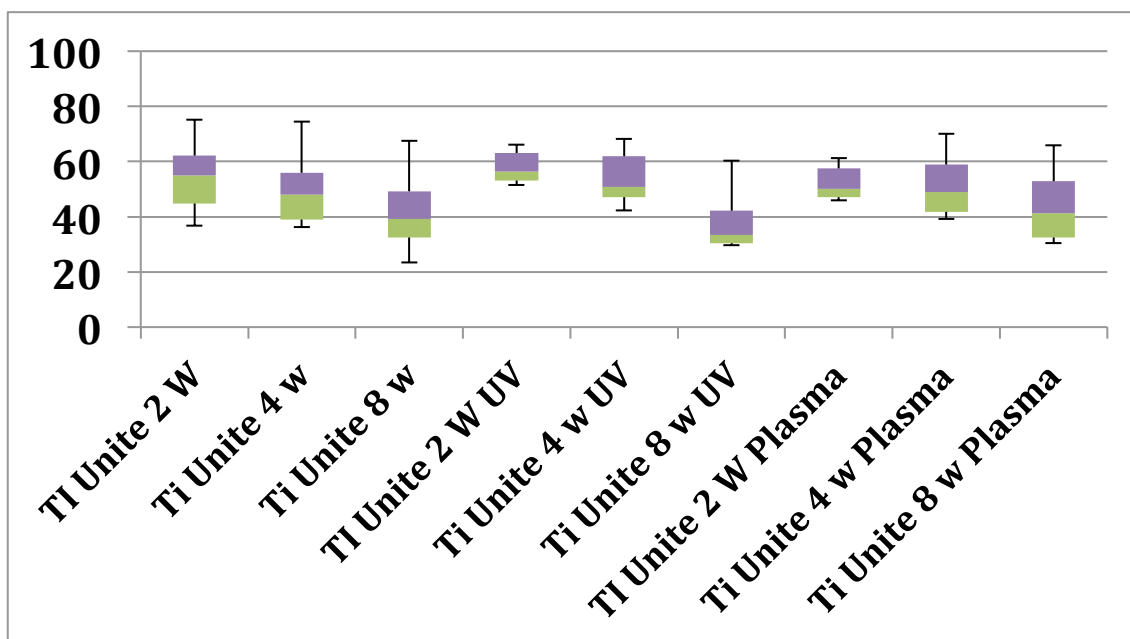


Abbildung 13: Weichteilgewebe im Umliegenden Gewebe - Durchschnitts Wert (in %) aus der Messung beider Implantatseiten

8.3.2 Biomechanik

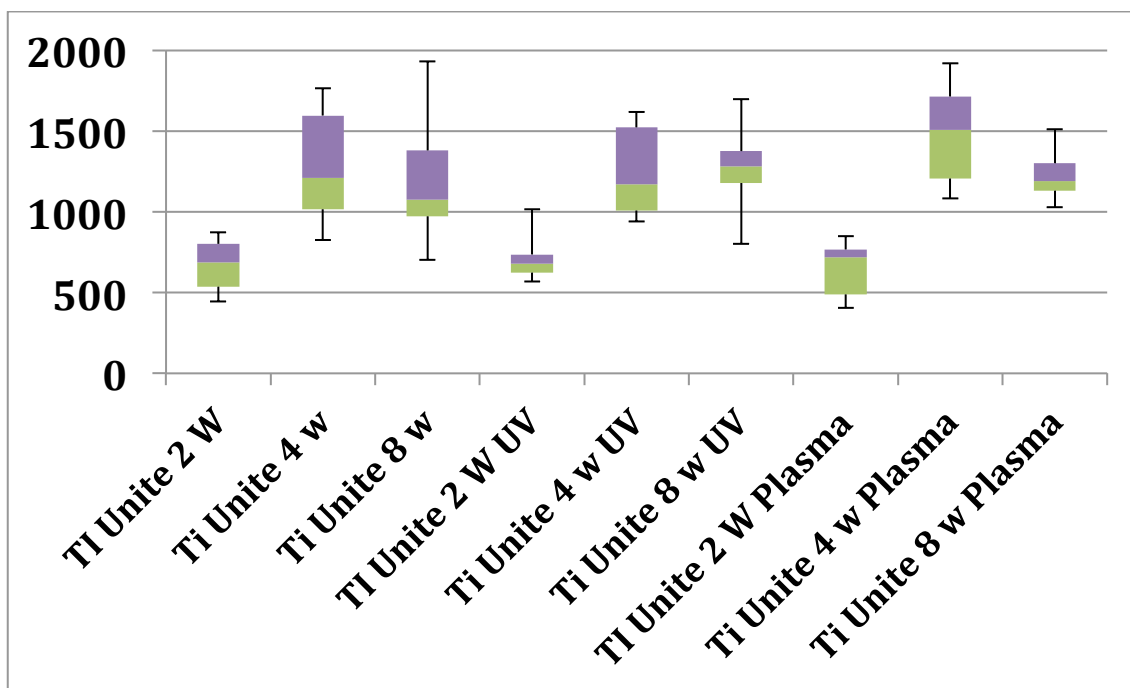


Abbildung 14: Ausdrehmoment (Nmm)

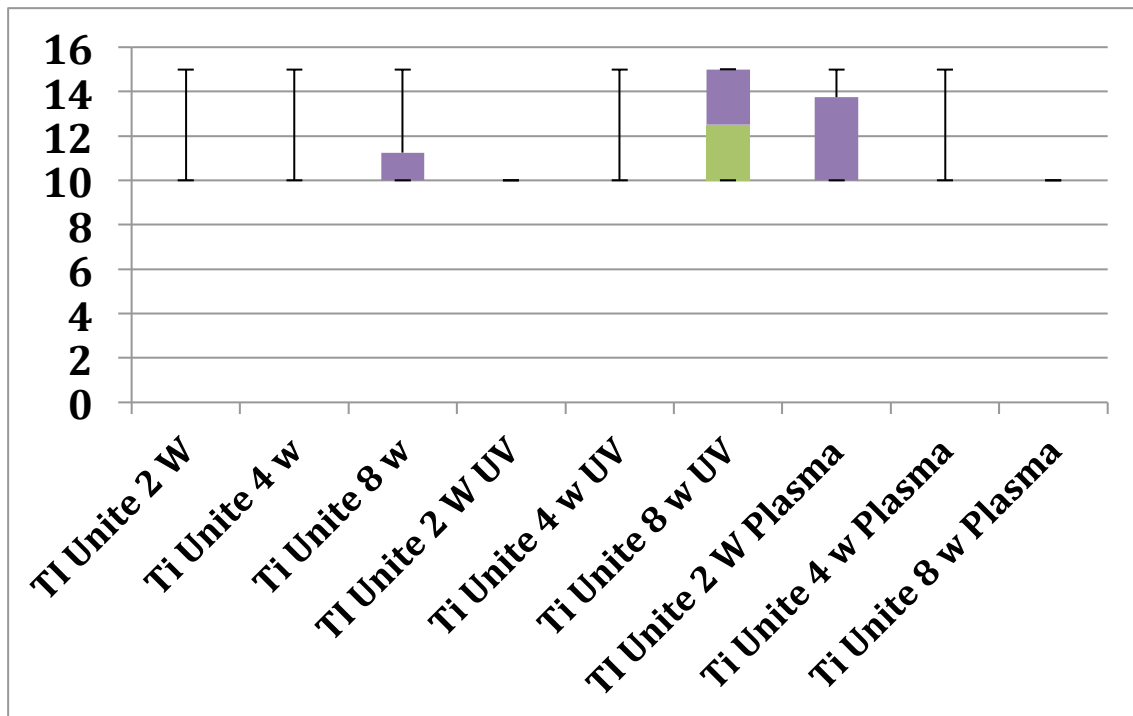


Abbildung 15: Drehmoment bei der Implantation - Anfangswert (Nmm)

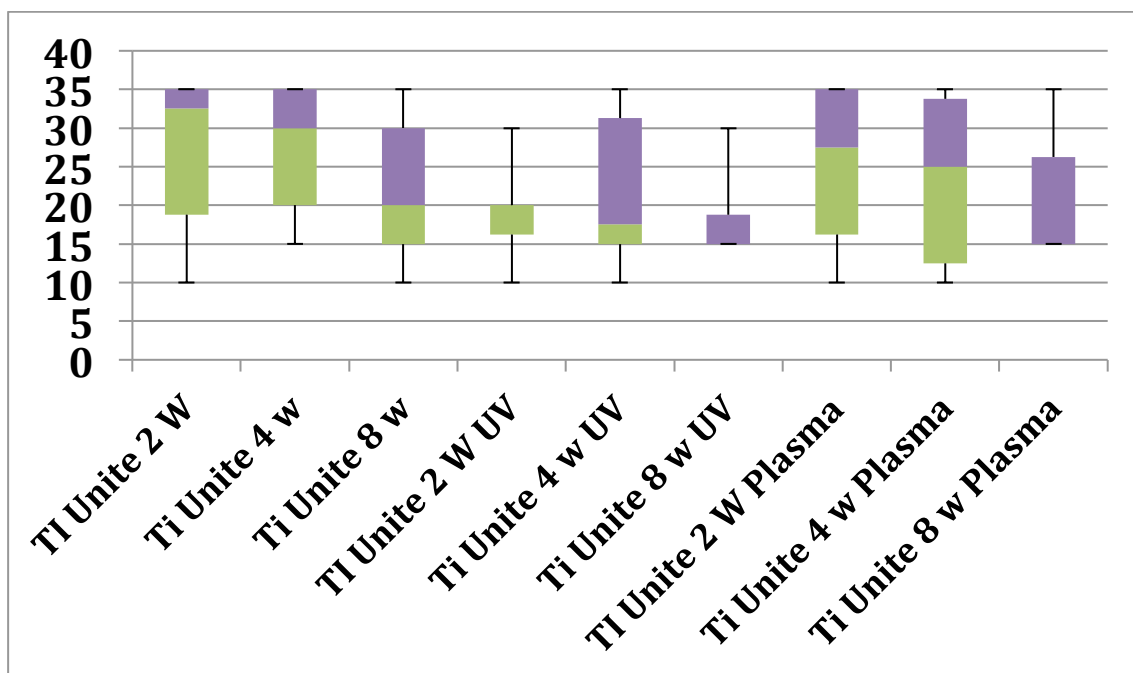


Abbildung 16: Drehmoment bei der Implantation Endwert (Nmm)

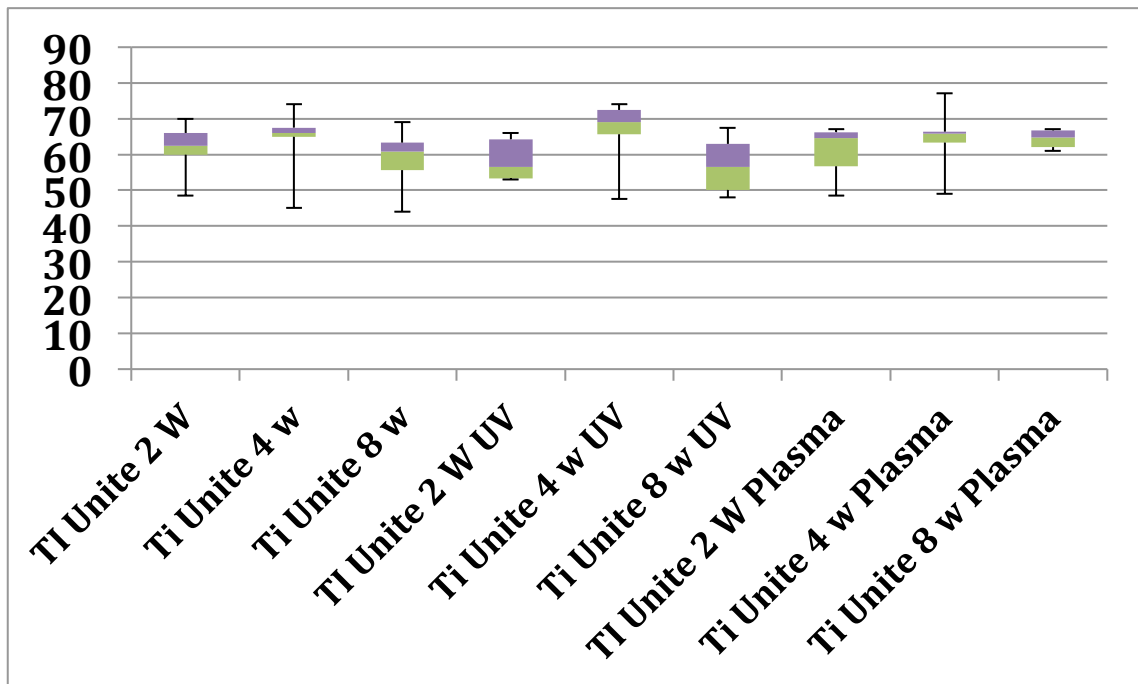


Abbildung 17: Resonanzfrequenzmessung bei der Implantation – Durchschnitts Wert aus 2 Messungen

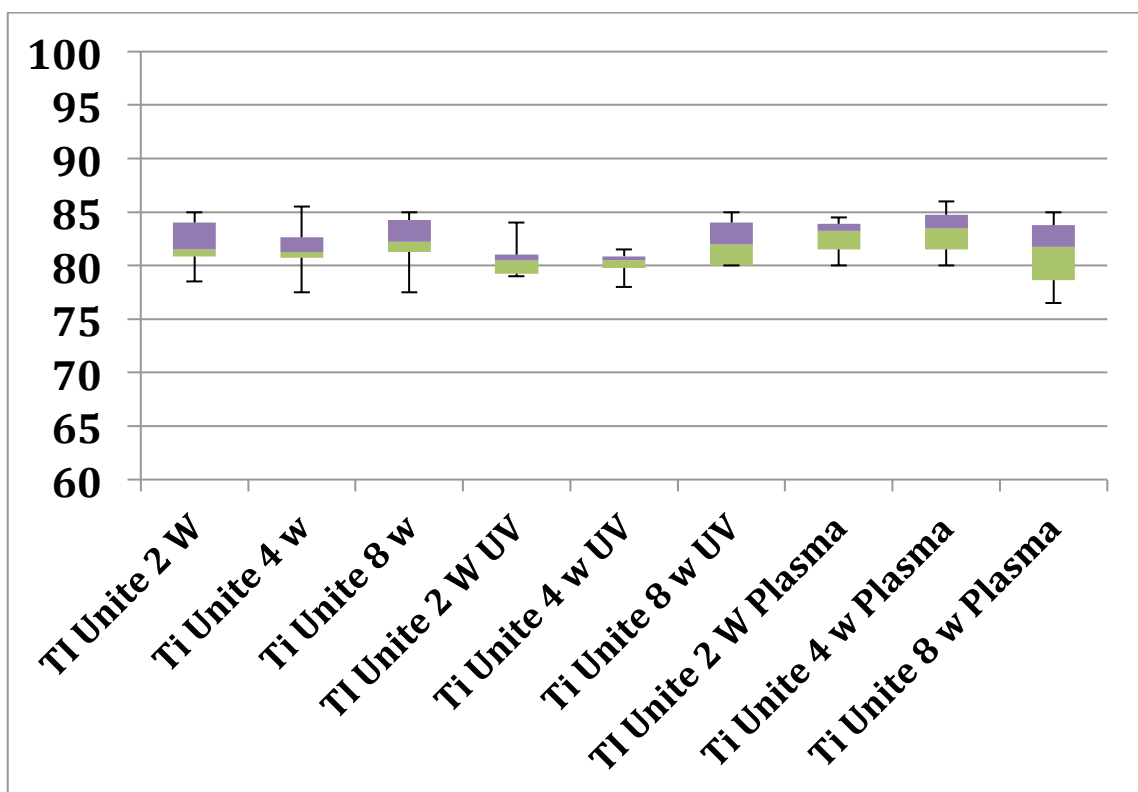


Abbildung 18: Resonanzfrequenzmessung bei der Schlachtung – Durchschnitts Wert aus 2 Messungen

8.4 Abbildungen der histologischen Schnitte, Mikroradiographie und der Fluoreszenzschnitte

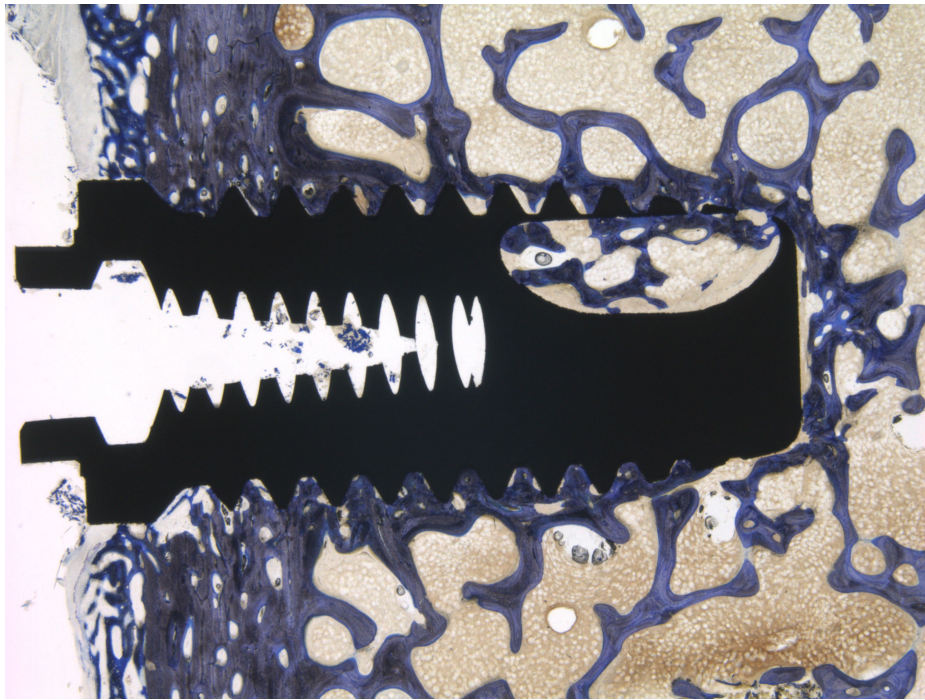


Abbildung 19 : Übersichtsaufnahme eines histologischen Schnittes

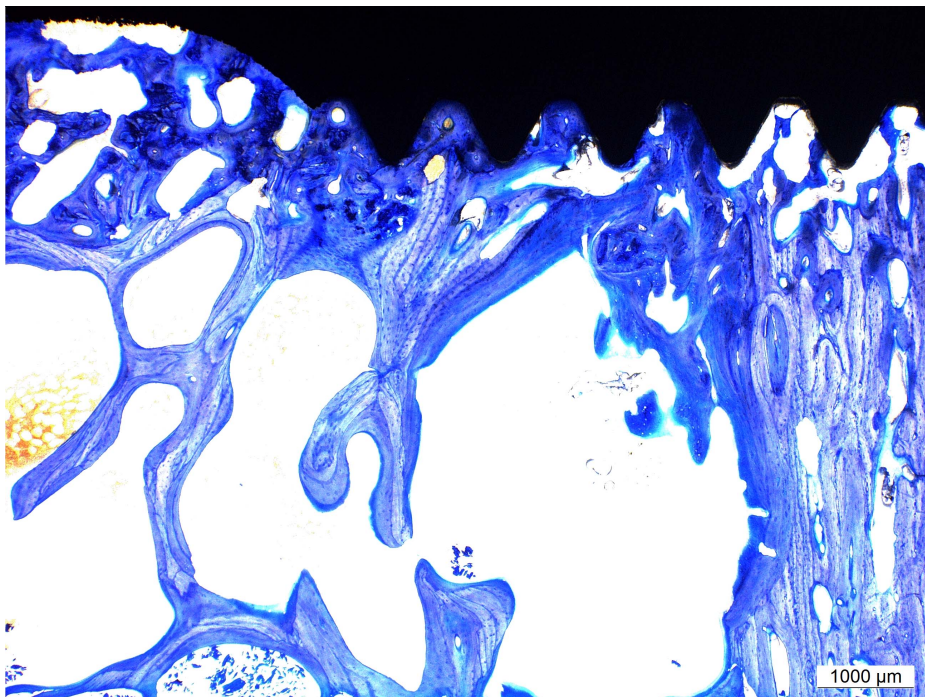


Abbildung 20: Aufnahme der Windungen einer einzelnen Seite des Implantates, diese Bilder wurden für die histomorphometrische Auswertung verwendet

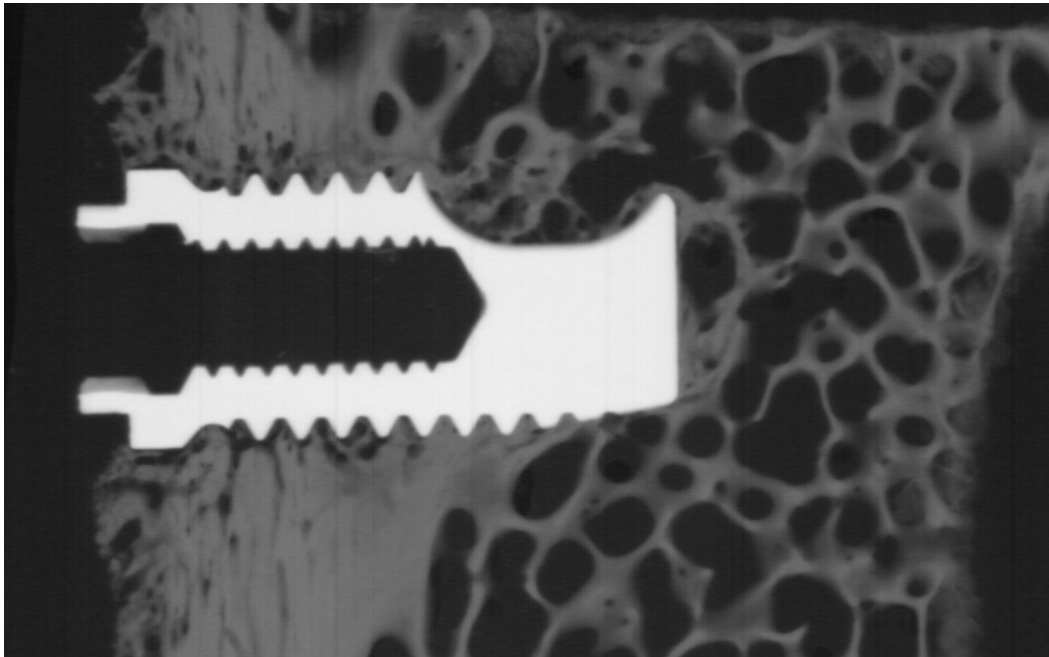


Abbildung 21: Mikroradiographie eines histologischen Schnitts

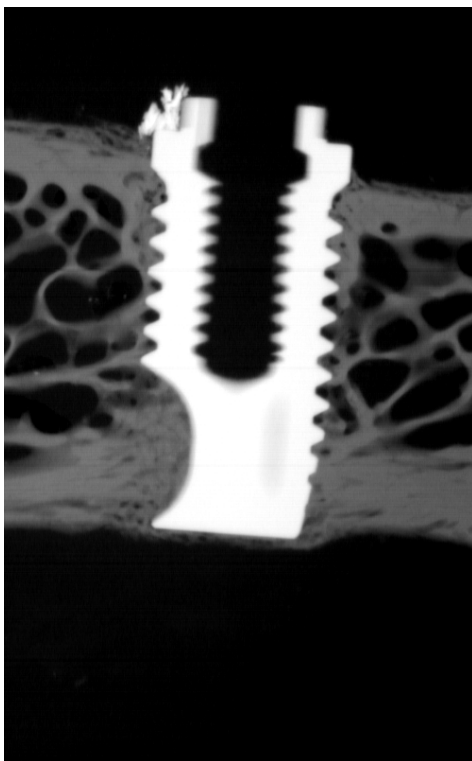


Abbildung 22: Links - Beispiel fuer ein Implantat das in der gegenüberliegenden Knochen-Cortex steckt - 11.10 L4

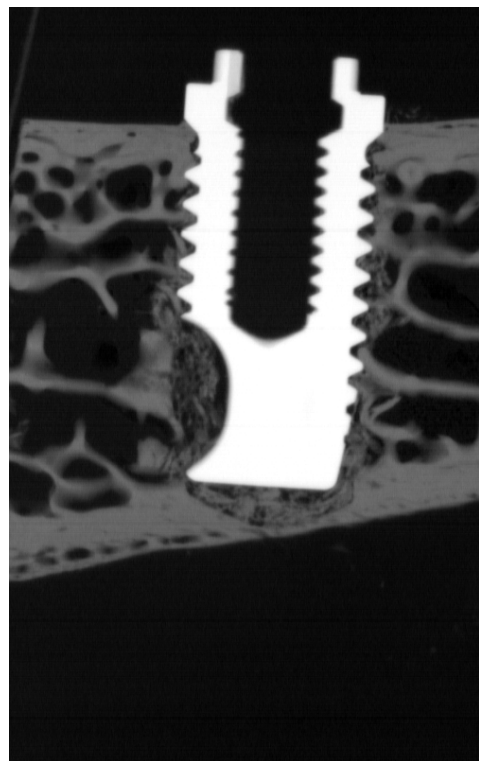


Abbildung 23: Rechts – Beispiel fuer ein Implantat das die gegenüberliegende Knochen-Cortex penetriert - 11.32 L6

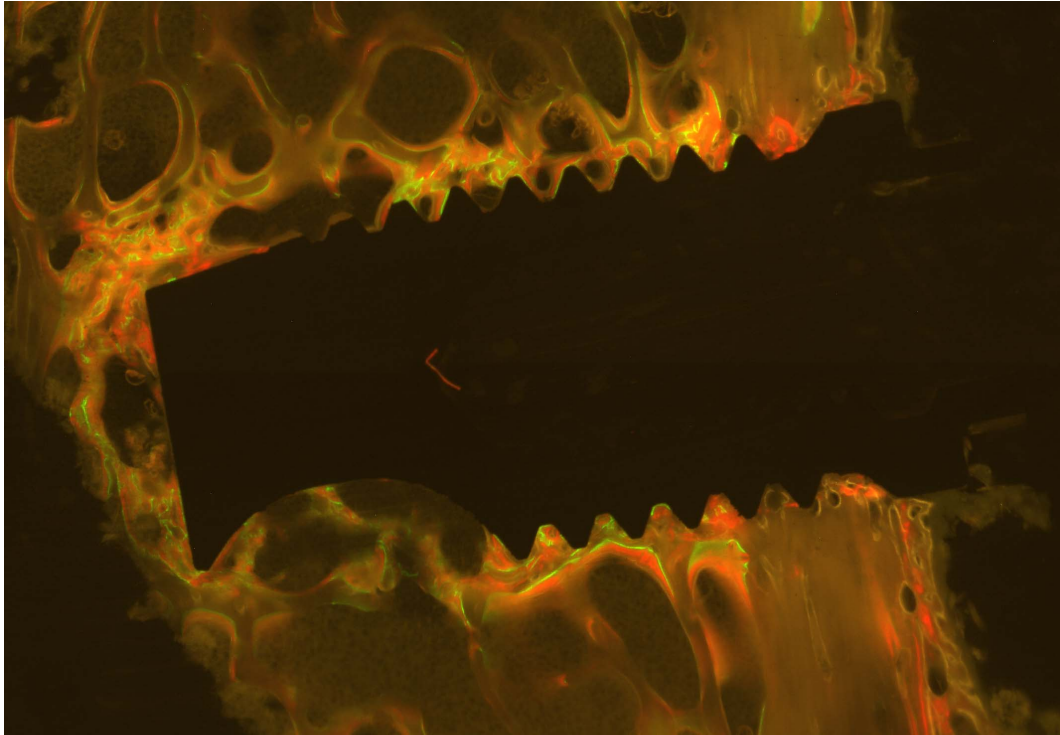


Abbildung 24: Fluoreszenzschnitt – mit allen drei Farben – 8 Wochen Gruppe

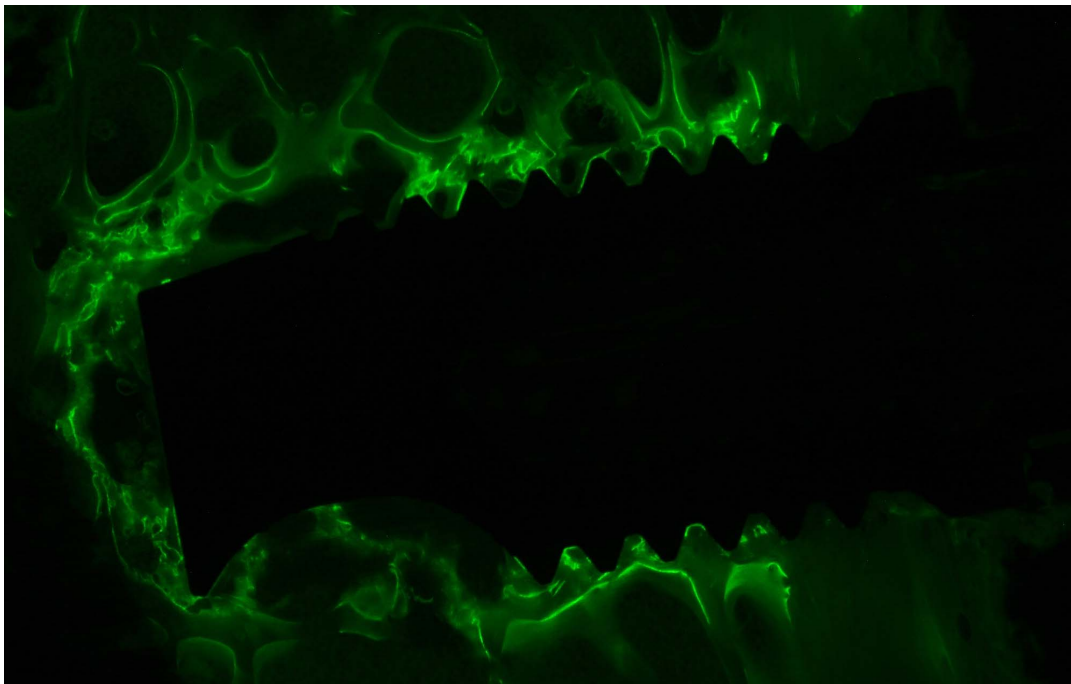


Abbildung 25: Fluoreszenzschnitt – Calceingrün nach 11 Tagen

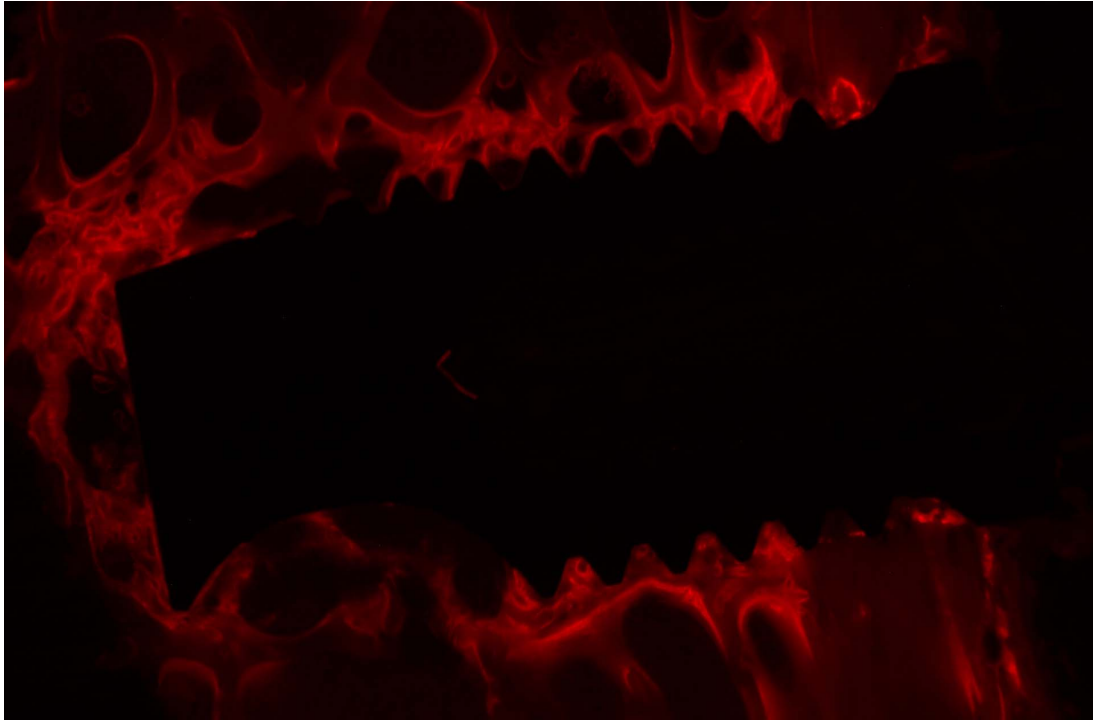


Abbildung 26: Fluoreszenzschnitt - Xylenolorange nach 28 Tagen

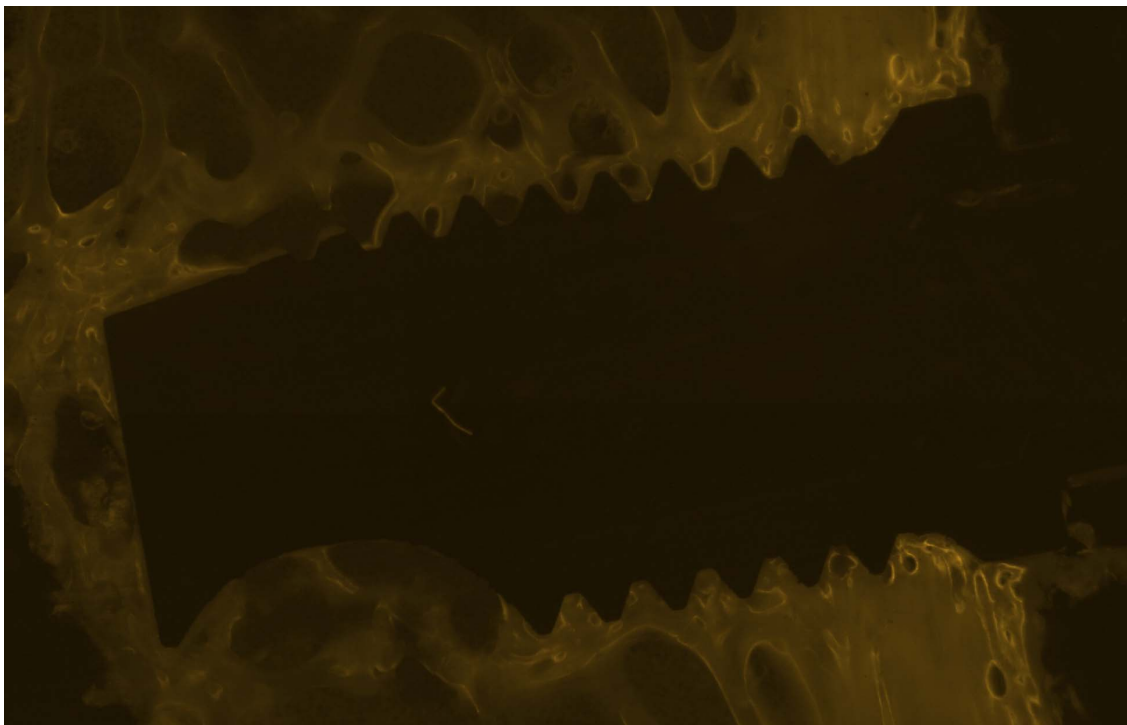


Abbildung 27: Fluoreszenzschnitt – Tetrazyklin nach 54 Tagen

Danksagung

Diese wissenschaftliche Arbeit entstand durch die Unterstützung vieler einzelner Personen, durch eine produktive Zusammenarbeit und vor allem in einer ausgesprochen angenehmen Atmosphäre. Deshalb möchte ich mich bei allen Menschen bedanken, die mir die Durchführung dieser Arbeit ermöglicht haben. An allererster Stelle bedanke ich mich bei Frau Dr. Brigitte von Rechenberg für die Vergabe des Themas. Sie war eine aussergewöhnliche Chefin, die mich immer tatkräftig und in jeder Angelegenheit unterstützt hat.

Ansprechpartner war auch immer Stefan Stübinger. Danke für die engagierte Mithilfe an meinem Projekt und die Betreuung meiner Dissertation, ebenso wie für die Durchführung der chirurgischen Eingriffe. Ebenso danke ich Herrn Prof. Stephen Ferguson, Leiter des Instituts für Biomechanik an der ETM Zürich für die Übernahme des Koreferats.

Weiter bedanke ich mich bei meinen Projektpartnern von Nobel Biocare für die exzellente Zusammenarbeit und besonders bei Anja Hänsli für die Unterstützung in der Vorbereitungszeit und an den OP-Tagen.

In derselben Weise haben mich das Team der Rinderklinik und die Fahrer des Tierspitals unterstützt.

Vielen Dank dem Team des Schlachthofes für die kollegiale Atmosphäre und besonders an Paul Müller, der auch an den Schlachttagen immer für gute Stimmung gesorgt hat. Bei Dr. Svende Pfundstein und Dr. Michele Sidler bedanke ich mich für die exzellente Durchführung der Narkose und die manchmal tatkräftige Hilfe bei den OPs. Für die Verarbeitung meiner Proben und die Mithilfe bei allen praktischen Tätigkeiten gilt mein Dank an Käthi Kämpf. Ebenso danke ich Rainer Egle für die Hilfe bei der Anfertigung des Booklets. Besonderen Dank für ausgezeichnete Betreuung unserer Schafe an Familie Knüsel und unsere Tierpflegerin Silvana.

Einen grossen Dank an das Team der MSRU und meine Doktorantenkollegen, insbesondere Valentin Reichle, Dr. Oliver Gehrig, Dr. Michèle Sidler, Dr. Svende Pfundstein, Dr. Ramon Bucher, Dr. Anke Schulze Grotthoff, Dr. Mario Benn, Dr. Agnieszka Karol, Lea Gegner, Dr. Lena Müller, Dr. Karina Klein, Käthi Kämpf, Dr. Henriette Lapczynska, Dr. Anika Drechsler, Dr. Francis Pusch für die angenehme und produktive wissenschaftliche Zusammenarbeit, die Hilfe an den zahlreichen OP-Tagen.

Meinen Eltern Heidrun und Krzysztof, meinen Geschwistern Alkmar und Aila danke ich für die fortwährende Unterstützung und den Rückhalt, den sie mir stets gegeben haben.

Meiner Freundin Agnieszka Książek danke ich für die Toleranz, Unterstützung und Motivation die sie immer für mich aufbrachte.

Lebenslauf

Name	Ansgar Solecki
Geburtsdatum	13.09.1383
Geburtsort	Schlema
Nationalität	Deutsch
1990 – 1994	Grundschule in Ujście, Polen
1994 – 1998	Grundschule des STO in Piła, Polen
1998 – 2002	Lyzeum des STO in Piła, Polen
2003 – 2007	Studium der Veterinärmedizin an der UWM Universität in Allenstein, Polen
2007 – 2008	Erasmus Stipendium an der Justus Liebig Universität in Gießen, Deutschland
2008 – 2009	Fortsetzung des Studiums an der Veterinärmedizinischen Fakultät Allenstein, Polen
Juni 2009	Erhalt der Approbation
2009 – 2010	Assistenzstelle in Polen, Gemischtpraxis in Ujście
2010 – 2012	Assistenzstelle in Deutschland, Königslutter am Elm, Tierklinik am Elm
2011 –2013	Promotion in der Musculoskeletal Reasearch Unit (MSRU), Department für Pferde der Vetsuisse Fakultät der Universität Zürich, Schweiz
